

AGNIESZKA STAREK-WÓJCICKA, ELŻBIETA GRZĄDKA,
AGNIESZKA SAGAN, PIOTR TEREKUN, MICHAŁ KWIATKOWSKI,
DAWID ZARZECZNY, ZBIGNIEW KOBUS, BARBARA CHUDZIK,
DARIUSZ ANDREJKO, JOANNA PAWŁAT

WPLYW OBRÓBKI ZIMNĄ PLAZMĄ ATMOSFERYCZNĄ NA JAKOŚĆ ŚWIEŻEGO SOKU TŁOCZONEGO Z MARCHWI

Streszczenie

Wprowadzenie. Rosnące zainteresowanie konsumentów nabywaniem żywności minimalnie przetworzonej, zachowującej różne składniki bioaktywne, zrodziło potrzebę zbadania wpływu nowej niskotemperaturowej metody utrwalania na cechy jakościowe świeżo tłoczonego soku z marchwi (odmiana Nerac). Analizowano wpływ gazu plazmowego (powietrza) generowanego w reaktorze typu Glide-arc pracującym pod ciśnieniem atmosferycznym na zmiany mikrobiologiczne, fizykochemiczne i strukturalne próbek produktów. Do badań wykorzystano trzy grupy soków charakteryzujących się różnym czasem ekspozycji na plazmę (10, 20, 30 minut) oraz sok niepoddany obróbce (kontrolny). Właściwości soków oceniano po 1, 2 i 3 dniach przechowywania w lodówce w temperaturze 6 °C.

Wyniki i wnioski. Badania wykazały, że soki poddane działaniu plazmy przez 20 i 30 minut charakteryzowały się dobrą, stabilną jakością mikrobiologiczną nawet po 3 dniach chłodniczego przechowywania. W wyrobach zaobserwowano również wzrost stabilności koloidalnej i, co bardzo ważne, zawartości ekstraktu, karotenoidów i polifenoli w porównaniu z próbką kontrolną. Analiza EDX wykazała, że składy pierwiastkowe próbek przed plazmowaniem i po nim nie różniły się od siebie w sposób jakościowy, natomiast występowały niewielkie różnice ilościowe. Jednakże we wszystkich próbkach soku traktowanego zimną plazmą zaobserwowano nieznaczne zmniejszenie jasności wyrobów oraz wskaźników chromatycz-

Dr hab. prof. UP A. Starek-Wójcicka ORCID: 0000-0002-9387-5900, dr A. Sagan ORCID: 0000-0001-6542-9260, prof. dr hab. D. Andrejko ORCID: 0000-0001-9345-7795, Katedra Biologicznych Podstaw Technologii Żywności i Pasz, Wydział Inżynierii Produkcji, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Głęboka 28, 20-612 Lublin; dr hab. prof. UMCS E. Grządka ORCID : Katedra Chemii Fizycznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, pl. M. Curie-Skłodowskiej 2, 20-031 Lublin; dr inż. P. Terebun ORCID: 0000-0002-3947-9552, mgr inż. M. Kwiatkowski ORCID: 0000-0001-5697-3176, dr inż. D. Zarzeczny ORCID: 0000-0003-2029-9962, dr hab. inż., prof. PL J. Pawłat ORCID: 0000-0001-8224-0355, Zakład Technologii Plazmowych, Katedra Elektrotechniki i Elektro-technologii, Wydział Elektrotechniki i Informatyki, Politechnika Lubelska, ul. Nadbystrzycka 38C, 20-618 Lublin, Dr hab. prof. UP Z. Kobus ORCID: 0000-0003-2155-1090, Katedra Podstaw Techniki, Wydział Inżynierii Produkcji, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Głęboka 28, 20-612 Lublin, dr B. Chudzik ORCID: 0000-0001-5091-8846, Pracownia Edukacji Biologicznej i Środowiskowej z Muzeum Zoologicznym, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin; Kontakt: e-mail: agnieszka.sagan@up.lublin.pl

ności a^* i b^* . Generalnie wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że obróbka zimną plazmą jest obiecującą techniką, która może zapewnić lepszą jakość i większą stabilność koloidalną podczas przetwarzania soku marchwiowego, a traktowany w ten sposób produkt charakteryzuje się lepszymi właściwościami fizykochemicznymi i większą ilością biodostępnych składników odżywczych.

Słowa kluczowe: świeżo tłoczony sok marchwiowy, zimna plazma, stabilność mikrobiologiczna, wartości odżywcze, stabilność koloidalna, potencjał dzeta

Wprowadzenie

Wraz z nadejściem XXI wieku rośnie zapotrzebowanie na bezpieczną i odżywczą żywność [18]. Przemysł spożywczy coraz częściej stara się wprowadzać nowatorskie technologie nietermicznego przetwarzania wyrobów. Zimna plazma to jedna z obiecujących niskotemperaturowych metod utrwalania żywności, która może znaleźć zastosowanie w branży sokowniczej [5, 16, 21]. Jej ogromną zaletą jest to, że krótki czas aplikacji nie powoduje znaczącego pogorszenia jakości produktów. W związku z tym jest to doskonała alternatywna technologia przetwarzania (w stosunku do pasteryzacji), która poprzez inicjowanie reakcji fizykochemicznych z udziałem reaktywnych form tlenu i azotu oraz naładowanych cząstek może być wykorzystywana między innymi do poprawienia wartości odżywczych czy przedłużenia przydatności do spożycia surowych i przetworzonych wyrobów. Ze względu na różnorodność biologiczną poszczególnych produktów żywnościowych, odmienne właściwości reaktorów plazmowych oraz możliwość zastosowania obróbki na różnych etapach produkcji, wiele potencjalnych wariantów zastosowania niskotemperaturowej plazmy pozostaje niezbadanych [2, 4, 6, 10, 13, 19, 22, 24, 25, 26]. Jednym z produktów, na temat którego wciąż brakuje publikacji naukowych dotyczących wykorzystania obróbki plazmowej, jest sok marchwiowy. Z uwagi na to, że zawiera on wiele substancji biologicznie czynnych, a także łatwo ulega rozwarstwieniu i zmianom barwy konieczne jest określenie zakresu, w jakim zimna plazma wpływa na właściwości fizykochemiczne, strukturę i stabilność mikrobiologiczną tego typu wyrobu.

Celem pracy było wykorzystanie zimnej plazmy do uzyskania soku z marchwi o wysokiej stabilności mikrobiologicznej i koloidalnej cechującego się wydłużonym terminem przydatności do spożycia i zachowanymi cennymi właściwościami odżywczymi.

Material i metody badań

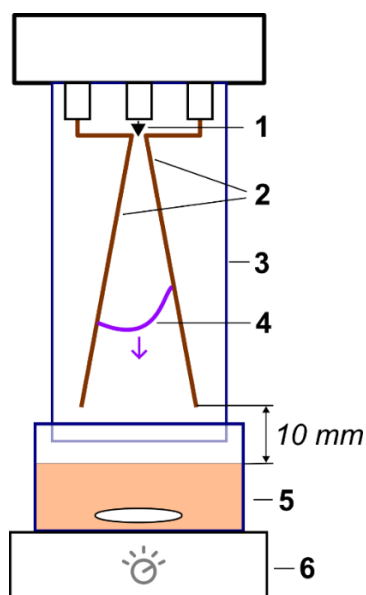
Material badany

Material badany stanowił sok uzyskany z marchwi odmiany Nerac, uzyskany przy użyciu wyciskarki wolnoobrotowej firmy Hurom (Model HZ, Owadów, Sławno). Część napoju poddano działaniu zimnej plazmy przez 10, 20 lub 30 minut, zaś kontrolę

stanowił sok niepoddany obróbce. Próbkę przechowywano w lodówce w temperaturze 6 °C przez 3 dni.

Sposób obróbki soku zimną plazmą

Do obróbki plazmą nierównowagową wykorzystano jednofazowy reaktor ze ślizgającym się łukiem (*gliding arc discharge*), pracujący pod ciśnieniem atmosferycznym. Składał się on z układu dwóch wyprofilowanych, miedzianych elektrod o długości 78 mm, przy kącie rozwarcia wynoszącym 12°. W celu ograniczenia wypływu gazu na zewnątrz układu elektrody umieszczono w szklanej osłonie o średnicy 60 mm. Układ zasilania pozwalał na uzyskiwanie wysokonapięciowych impulsów o wartości maksymalnej 3,5 kV przy mocy pozornej układu wynoszącej 60 VA. Szklany pojemnik o średnicy wewnętrznej 63 mm napełniano 25 ml świeżo tłoczonego soku marchwiowego i umieszczono w taki sposób, aby zwierciadło cieczy było w odległości 10 mm od powierzchni elektrod. Jako gaz roboczy wykorzystano sprężone powietrze przy przepływności 440 l/h, regulowanym za pomocą szklanego rotametri tablicowego (Zakłady Automatyki „ROTAMETR”, Polska). W wyniku wymuszonego przepływu



Rys. 1. Schemat układu do obróbki plazmą nierównowagową: 1 – wymuszony przepływ gazu; 2 – elektrody; 3 – szklana rura; 4 – ślizgający się łuk elektryczny; 5 – otwarte naczynie z sokiem i mieszadełkiem; 6 – mieszadło magnetyczne

Fig. 1. Schematic diagram of the non-equilibrium plasma processing system: 1 – forced gas flow; 2 – electrodes; 3 – glass tube; 4 – gliding arc; 5 – open container with juice and stirrer bar; 6 – magnetic stirrer

gazu wytworzony łuk elektryczny poruszał się wzdłuż elektrod w kierunku cieczy, po czym następowało jego gaśnięcie i ponowne pojawienie się w strefie zapłonu. Dla uzyskania równomiernej ekspozycji na czynniki aktywne sok podczas obróbki był mieszany z użyciem mieszadła magnetycznego oraz mieszadełek pokrytych teflonem (rys. 1). Do kontroli temperatury cieczy po obróbce wykorzystano miernik temperatury DT-847U (Yu Ching Technology) z termoparą typu K. Maksymalna zaobserwowana temperatura dla najdłuższego czasu obróbki nie przekraczała 39 °C.

Ocena mikrobiologiczna soku z marchwi

Oceny jakości mikrobiologicznej soków marchwiowych świeżo wyciśniętych (kontrolnych) oraz poddanych procesowi plazmowania dokonano na podstawie wyników z posiewów powierzchniowych, wykonanych tradycyjną metodą płytkową na pożywce zestalonej agarem, zgodnie z obowiązującymi normami [PN-EN ISO 4833-2, PN-ISO 21527-2]. Posiewy przeprowadzono w komorze laminarnej z lampą UV CRUMA 670FL (El Prat de Llobregat, Barcelona, Hiszpania). Hodowlę bakterii tlenowych prowadzono na podłożu agar odżywczy (PCA) w temperaturze 30 °C przez 72 h, a drożdży i pleśni – na podłożu agarowym YPD z dichloranem i 18-procentowym dodatkiem glicerolu (DG18), w temperaturze 25 °C przez 5 dni. Inkubacja analizowanych mikroorganizmów odbywała się w cieplarni POL-EKO typ CLN 115 SMART (Wodzisław Śląski, Polska). Wyrosłe kolonie zostały zliczone, a wyniki wyrażono, jako \log_{10} jednostek tworzących kolonie na mililitr próbki soku (\log_{10} jtk/cm³).

Pomiar podstawowych właściwości fizykochemicznych soku z marchwi

Pomiar pH soków marchwiowych przed obróbką plazmową i po niej przeprowadzono pH-metrem (Elmetrin CX-401, Polska) poprzez bezpośrednie zanurzenie elektrody (elektroda EPS-1) w soku. Przewodność soków przed obróbką plazmową i po niej mierzono za pomocą konduktometru (Elmetrin CX-401, Polska), wykorzystując elektrodę konduktometryczną (elektrody EC-60), zaś stężenie rozpuszczonego tlenu – przy wykorzystaniu tlenomierza (Edge HI2004-02, Hanna Instruments, Polska) poprzez bezpośrednie zanurzenie elektrody (HI 764080) w soku. Barwę próbek soków określano za pomocą spektrofotometru SF80 (3Color, Marcq-en-Barœul, Francja). Instrument każdorazowo standaryzowano za pomocą czarnej i białej płytki (L^* : 92,37, a^* : -0,82, b^* : 1,82) przy użyciu oświetlacza D65 i kąta obserwatora 10°. Parametry barwy wyrażono jako: L^* , gdzie niska liczba 0 ÷ 50 oznacza ciemną barwę, a wysoka wartość 51 ÷ 100 wskazuje na jasną barwę; a^* , gdzie liczba dodatnia świadczy o przesunięciu barwy w kierunku koloru czerwonego, a wartość ujemna – o przesunięciu barwy w kierunku koloru zielonego, a także wartość b^* informującą, czy kolor badanego produktu jest bardziej żółty, czy niebieski. Wszystkie pomiary podstawowych

właściwości fizykochemicznych soku powtórzono trzykrotnie i podano wartości średnie z odchyleniem standardowym.

Analiza potencjału dzeta

Potencjał dzeta soków marchwiowych przed obróbką plazmową i po niej mierzono za pomocą NanoZS Zetasizer (Malvern Instruments, UK). Przed każdym pomiarem komorę aparatu przepłukiwano badanym sokiem. Do pomiarów wykorzystano uniwersalną celę zanurzeniową zawierającą zespół złożony z elektrod palladowych w rozstawie 2 mm. Pomiar przeprowadzono w kuwetach PCS1115. Oprogramowanie przeliczyło ruchliwość elektroforetyczną próbki na potencjał dzeta za pomocą równania Smoluchowskiego. Pomiary przeprowadzono w temperaturze 25 °C. Każdy pomiar powtarzano sześciokrotnie, a wartości uśredniano, podając odchylenia standardowe.

Pomiary stabilności koloidalnej

Stabilność koloidalną soków marchwiowych przed obróbką plazmową i po niej wykonano metodą turbidymetryczną Turbiscan LabExpert (L'Union, Francja) z modulem chłodzącym TLab Cooler. Sok przed obróbką plazmową i po niej (30 minut) przelewano do naczynia pomiarowego, które umieszczano w aparacie w termostowanej komorze. Dioda elektroluminescencyjna emitowała skolimowaną wiązkę światła ($\lambda = 880$ nm) przechodzącą przez próbkę. Detektor transmisji rejestrował światło przechodzące przez próbkę pod kątem 0° w kierunku padającego światła. Kolejna dioda pełniła funkcję detektora rozproszenia wstecznego rejestrując światło rozproszone pod kątem 135°. Próbkę skanowano przez 72 godziny z interwałem czasowym wynoszącym 2h. Wartości wskaźnika stabilności Turbiscan (TSI) w funkcji czasu obliczono również na podstawie wyników eksperymentów przy użyciu Turbiscan Easy Soft z równania:

$$TSI = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - x_{BS})^2}{n - 1}}$$

gdzie: x_i to średnie rozproszenie wsteczne co 2 godziny pomiaru, x_{BS} to średnia x_i , a n to liczba skanów. Pomiary prowadzono w temperaturze 25°C. Każdy pomiar powtarzano trzykrotnie, a wartości uśredniano podając odchylenia standardowe.

Analiza SEM - EDX

Do analizy morfologii próbek suszu uzyskanego z soków marchwiowych przed obróbką plazmową i po niej oraz ich składu pierwiastkowego (EDX) wykorzystano skaningową mikroskopię elektronową (SEM, Quanta 3D FEG, Fei, Hillsboro, OR, USA). Sok marchwiowy (25 ml) przelano na szalkę Petriego o średnicy 14 cm i suszono w suszarce laboratoryjnej (SLW 115 Simple, Pol-Eko, Polska) w temperaturze 40 °C przez 12 h. Niska temperatura i długi czas procesu pozwoliły zminimalizować

wpływ suszenia na właściwości produktu. Susz zebrano z szalki i wykorzystano do dalszych badań. Napięcie stosowane podczas pomiarów SEM wynosiło 5 KV, a mikro-fotografie wykonano przy powiększeniu $\times 100$, WD =10 mm. Wyniki ilościowe (EDX) uśredniono z czterech powtórzeń, podając odchylenia standardowe.

Ocena wartości odżywczej

Całkowita zawartość substancji rozpuszczalnych, czyli ekstraktu wyrażonego w °Brix, została oznaczona poprzez pomiar współczynnika załamania światła za pomocą ręcznego refraktometru cyfrowego LLG-uniREFRACTO (Meckenheim, Niemcy). Oznaczenie zawartości karotenoidów przeprowadzono spektrofotometrycznie [7]. Próbki soku ekstrahowano mieszaniną etanolu, acetonu i heksanu (w stosunku 1:1:2). Absorbancję fazy heksanowej mierzono przy długości fali 450 nm przy użyciu spektrofotometru Thermo Scientific UV-VIS Helios Omega 3 (Massachusetts, USA). Zawartość polifenoli oznaczono metodą Folina-Ciocalteu'a [11]. Próbki soku rozcieńczano 80-procentowym metanolem w stosunku 1:1 i wytrząsano przez pół godziny. 100 μ l tej mieszaniny połączono z 2,0 cm^3 wody i 200 μ l odczynnika Folina-Ciocalteu'a. Następnie dodano 1 cm^3 węgla sodu (20%). Absorbancję otrzymanego roztworu mierzono po 60 minutach przy fali 765 nm wykorzystując spektrofotometr UV-VIS (Helios Omega, Massachusetts, USA). Krzywą kalibracyjną wykonano przy użyciu standardowych roztworów kwasu galusowego, stosując tę samą metodę. Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

Analiza statystyczna

Analiza statystyczna wyników obejmowała obliczenie wartości średniej i odchylenia standardowego (Microsoft Excel 2019) oraz analizę ANOVA (Statistica 10). Do określenia różnic pomiędzy wartościami średnimi wykorzystano test post-hoc, Tukeya ($p \leq 0,05$).

Wyniki i dyskusja

Wpływ obróbki zimną plazmą na jakość mikrobiologiczną soku marchwiowego przedstawiono na rysunku 2. Badania wykazały, że ogólna liczba drobnoustrojów w soku kontrolnym (nie poddanym plazmowaniu) po pierwszej dobie przechowywania w zamkniętych pojemnikach w temp. +4°C wynosiła 5,15 \log_{10} jtk/ cm^3 i rosła wraz z czasem jego przechowywania, osiągając po trzech dobach wartość 8,28 \log_{10} jtk/ cm^3 , co czyniło sok nieprzydatnym do spożycia. Przy tak dużej liczbie mikroorganizmów początkowo sok nie wykazywał żadnych oznak zepsucia, jednak od trzeciego dnia zaobserwowano zmianę jego cech organoleptycznych (stwierdzono nieprzyjemny zapach oraz śluzowatą konsystencję). Zgodnie z wymaganiami zawartymi w Codex Standards z 2005 roku, według których całkowita liczba tlenowych mikroorganizmów

mezofilnych w soku przeznaczonym do spożycia na surowo nie powinna przekraczać $3-4 \log_{10} \text{ jtk/cm}^3$, analizowane próbki soku nie nadawały się do spożycia. Zastosowana obróbka zimną plazmą wykazała dużą skuteczność w eliminacji drobnoustrojów, zależną od czasu trwania tego zabiegu.

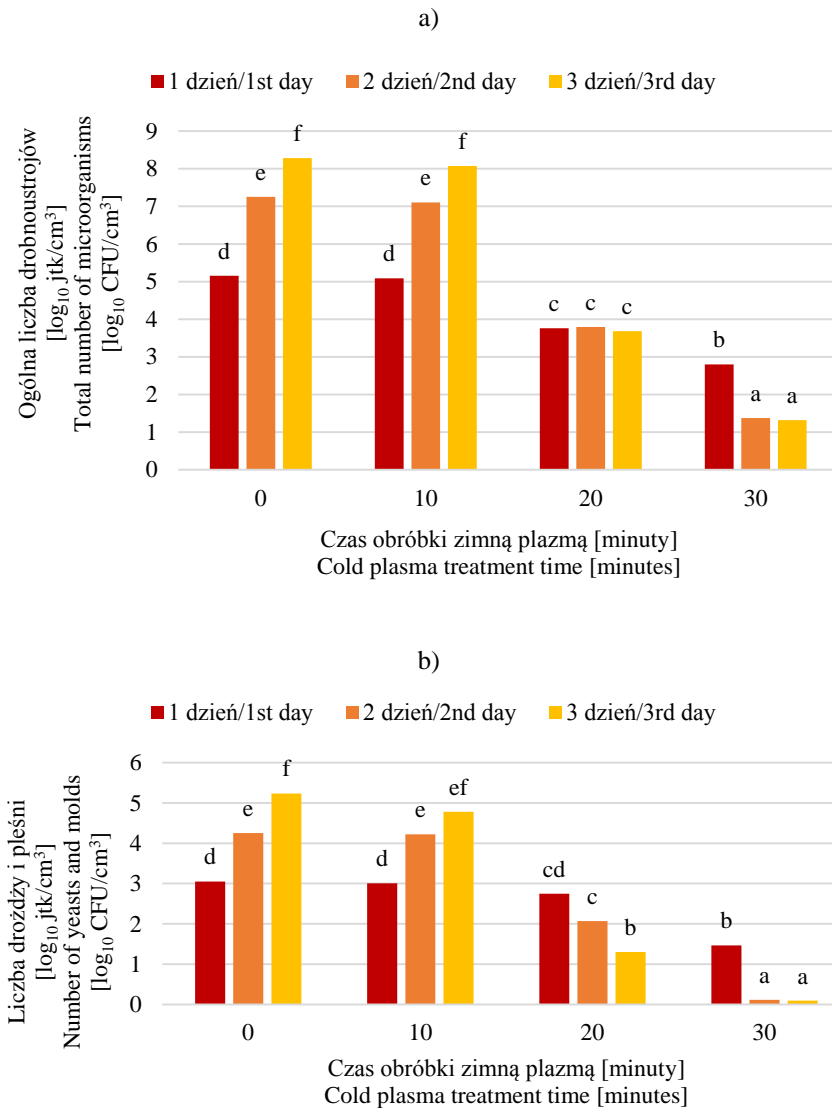
Czas plazmowania wynoszący 10 minut nie wpłynął istotnie na ilość drobnoustrojów w stosunku do próby kontrolnej, bez względu na czas przechowywania soku. Z kolei traktowanie próbek plazmą przez 20 i 30 minut pozwoliło zredukować ogólną liczbę drobnoustrojów tlenowych i otrzymać produkt zdatny do spożycia, spełniający wymagane kryteria.

Największą eliminację liczby mezofilnych mikroorganizmów tlenowych, o 85 % w stosunku do kontroli, zaobserwowano w przypadku próbek plazmowanych przez 30 minut po 3 dniach przechowywania (Rys. 2a).

Ilość drożdży i pleśni (Rys. 2b) w kolejnych dniach przechowywania kontrolnego soku marchwiowego również wzrastała, osiągając po pierwszej dobie przechowywania ilość $3,05 \log_{10} \text{ jtk/cm}^3$, a po trzech dobach – $5,23 \log_{10} \text{ jtk/cm}^3$. Po zastosowaniu obróbki zimną plazmą przez 10 minut stwierdzono, że liczba drożdży i pleśni zmniejszyła się w stosunku do prób kontrolnych tylko o 1,31 %, 0,71 % i 8,60 % odpowiednio po 1, 2 oraz 3 dniach przechowywania próbek w warunkach chłodniczych. Wydłużenie czasu plazmowania do 20 minut było bardzo skuteczne w eliminacji badanych grzybów. Zaskakujące było to, że zawartość drożdży i pleśni w kolejnych dniach przechowywania malała. Po pierwszej dobie przechowywania liczba jednostek tworzących kolonie wynosiła $2,75 \log_{10} \text{ jtk/cm}^3$, a po 3 dobach przechowywania spada do $1,30 \log_{10} \text{ jtk/cm}^3$. Wyniki te wskazują, że 20-minutowa obróbka plazmą całkowicie zahamowała zdolność namnażania się grzybów oraz spowodowała uszkodzenia ich komórek, które w kolejnych dniach prowadziły do ich stopniowego obumierania. Natomiast 30-minutowe traktowanie soku zimną plazmą pozwoliło wyeliminować analizowane drobnoustroje prawie całkowicie.

Efekt dekontaminacyjny zimnej plazmy w stosunku do różnych szczepów mikroorganizmów, w tym chorobotwórczych, potwierdzony podczas obróbki soku jabłkowego, pomarańczowego, wiśniowego czy pomidorowego [3], ananasowego [20] a także jagodowego [9] wynika z chemicznych oddziaływań rodników (O, OH, itp.), wzbudzonych, reaktywnych cząsteczek (O_2^* , O_3 , NO, itp.) lub cząstek naładowanych (elektrony i jony atomowe lub cząsteczkowe) na lipidy i białka błon komórkowych. Substancje reaktywne, powstające w wyniku rozkładu powietrza, takie jak ozon, tlen atomowy, nadtlutki, rodniki hydroksylowe odgrywają wiodącą rolę w dezaktywacji drobnoustrojów, podczas gdy NO i dwutlenek azotu NO_2 uczestniczą w inaktywacji mikroorganizmów poprzez rozkład związków chemicznych, takich jak białka, lipidy i kwasy nukleinowe. Ważna jest również rola fotonów UV w inaktywacji mikroorgani-

zmów, które uszkodzają materiał genetyczny, a tym samym hamują replikację DNA [8,12,14,15,17].



Rys. 2. Wpływ czasu działania zimnej plazmy na zawartość a) ogólnej liczby drobnoustrojów (n = 4) i b) drożdży i pleśni (n = 4) w soku marchwiowym przechowywanym chłodniczo

Fig. 2. The effect of cold plasma exposure time on the content of a) total number of microorganisms (n = 4) and b) yeasts and molds (n = 4) in carrot juice stored refrigerated

W tabeli 1 zestawiono wyniki analizy barwy soków przedstawionej w przestrzeni barw CIE L*a*b*. Odnotowano pociemnienie (zmniejszenie wartości parametru L*) wyrobów poddanych obróbce zimną plazmą w porównaniu z sokiem kontrolnym. Współczynnik chromatyczności a* zmienił się wraz ze zmianą czasu obróbki plazmą. Im dłuższy był czas traktowania soku marchwiowego zimną plazmą, tym ten współczynnik osiągał niższe wartości. Czas przechowywania był także czynnikiem różnicującym ten parametr. Zastosowana obróbka, a także czas przechowywania, wpłynęły również na obniżenie wartości współczynnika charakteryzującego barwę żółtą b*.

Tabela 1. Wpływ zimnej plazmy na parametry barwy soku marchwiowego (n = 3, średnia ± odchylenie standardowe)

Table 1. Effect of cold plasma treatment on color attributes of carrot juice (n = 3, mean ± standard deviation)

Czas plazmowania (minuty) / Plasma treatment time (minutes)	Czas przechowywania / Time storage (Days)	Indeksy barwy / Coloring Index		
		L*	a*	b*
0 (kontrola/control)	1	42,15 ⁱ ±0,02	16,75 ^g ±0,06	23,82 ^f ±0,04
10		41,51 ^h ±0,06	15,63 ^f ±0,02	23,41 ^f ±0,02
20		40,34 ^f ±0,07	15,32 ^e ±0,06	20,52 ^e ±0,02
30		39,86 ^e ±0,04	13,55 ^a ±0,04	20,52 ^e ±0,02
0 (kontrola/control)	2	41,16 ^g ±0,06	15,62 ^f ±0,18	21,17 ^{de} ±0,02
10		41,15 ^g ±0,02	14,38 ^{bc} ±0,03	20,52 ^c ±0,02
20		41,16 ^c ±0,06	15,62 ^b ±0,18	21,17 ^{de} ±0,02
30		38,90 ^b ±0,01	14,15 ^b ±0,03	18,08 ^b ±0,03
0 (kontrola/control)	3	39,60 ^d ±0,05	14,92 ^d ±0,06	20,65 ^{cd} ±0,12
10		39,18 ^c ±0,03	14,62 ^c ±0,18	20,52 ^c ±0,02
20		39,18 ^c ±0,05	14,29 ^b ±0,08	17,52 ^a ±0,44
30		38,11 ^a ±0,02	14,38 ^{bc} ±0,03	17,22 ^a ±0,08

Objaśnienia / Explanatory notes:

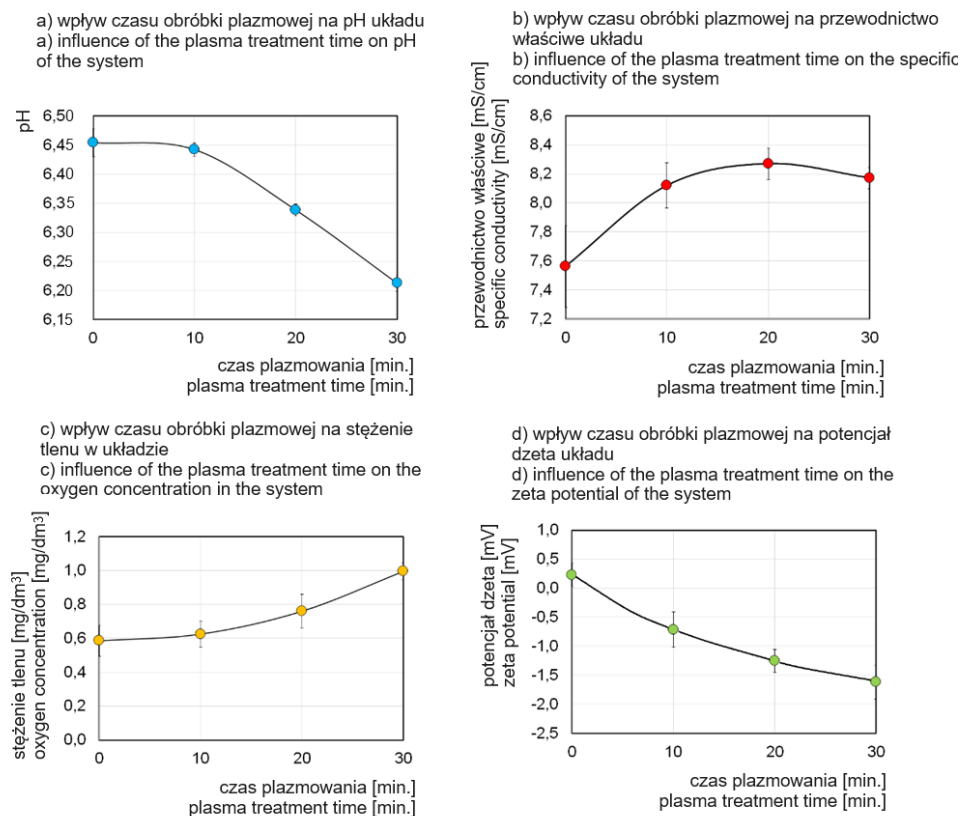
a, b, c – wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie przy $p \leq 0,05$ /

a, b, c – values marked with different letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$

Rysunek 3 przedstawia wpływ czasu plazmowania na podstawowe parametry fizykochemiczne soku marchwiowego (pH, przewodnictwo właściwe, stężenie tlenu) oraz potencjał dzeta. Jak widać, pH badanych układów malało stopniowo wraz ze wzrostem czasu plazmowania próbki (Rys. 3a). Oznacza to, że w trakcie plazmowania w układzie pojawiało się więcej substancji o charakterze kwasowym. Substancje te mogą pochodzić bezpośrednio ze zjonizowanego gazu lub, co bardziej prawdopodobne, są produktami oddziaływań pomiędzy plazmą a składnikami badanego układu. Przewodnictwo właściwe soku marchwiowego poddanego obróbce plazmowej (Rys.

3b) wzrastało wraz z czasem obróbki plazmowej, co oznacza, że w roztworze pojawiało się coraz więcej substancji jonowych. Co ciekawe, w czasie plazmowania wzrastała także zawartość tlenu w układzie (Rys. 3c). Wiadomo, że plazma powoduje utlenianie układów [1], zatem im dłuższa obróbka plazmą, tym wyższe jest stężenie tlenu w układzie. Może to oznaczać, że w trakcie procesów plazmowania zmienia się nie tylko morfologia części stałych soków warzywnych, ale także skład fazy płynnej.

Potencjał dzeta jest to potencjał występujący w części dyfuzyjnej podwójnej warstwy elektrycznej na powierzchni cząstek zdyspergowanych. Wiadomo, że jeśli wartość potencjału dzeta jest większa od 30 mV lub mniejsza od -30 mV, układ jest bardzo stabilny [23]. Wówczas siły odpychania między cząstkami budującymi układ są większe od sił przyciągania. Natomiast jeśli wartości potencjału dzeta są bliskie zera, układ jest całkowicie niestabilny, za co odpowiedzialne są siły przyciągania międzycząsteczkowego (elektrostatyczne lub Van der Waalsa).

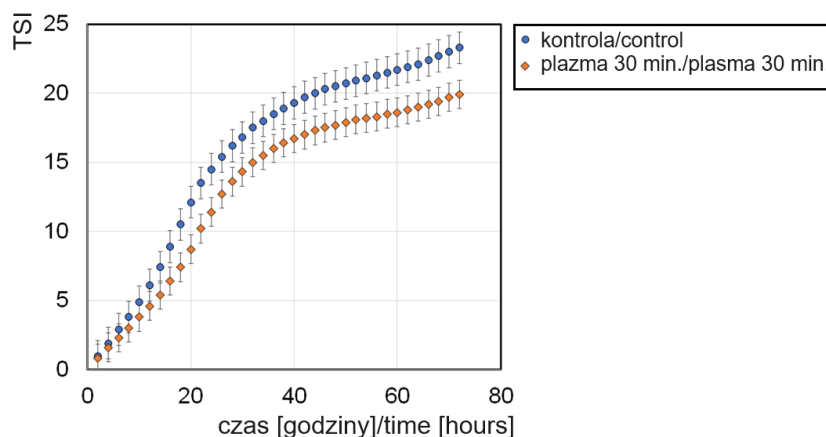


Rys. 3. Wpływ czasu plazmowania na parametry fizykochemiczne (n=3) i potencjał dzeta soku marchwiowego (n=6)

Fig. 3. Influence of plasma treatment time on physicochemical parameters (n = 3) and zeta potential (n = 6) of carrot juice

Rysunek 3d przedstawia wpływ czasu plazmowania na potencjał dzeta soku marchwiowego. Wyraźnie widać, że potencjał dzeta malał wraz z upływem czasu. Mniejsze wartości potencjału dzeta świadczą o tym, że im dłuższa obróbka plazmą, tym soki są stabilniejsze. Niemniej jednak uzyskanie bardziej szczegółowych informacji na temat zmian stabilności koloidalnej w czasie wymaga dodatkowych badań.

Obecnie najlepszą metodą badania stabilności koloidalnej układów zdyspergowanych jest turbidymetria. Rysunek 4 przedstawia wpływ obróbki plazmowej na stabilność koloidalną soku marchwiowego wyrażoną poprzez zmiany indeksu stabilności (TSI) od czasu. TSI może przyjmować wartości od 0 do 100. Im większa wartość TSI, tym badana próbka jest mniej stabilna. Zapewnienie stabilności koloidalnej dość gęstym sokom warzywnym stanowi duże wyzwanie, ponieważ układy te, zawierające duży udział frakcji stałej, łatwo sedymentują pod wpływem siły grawitacji. Najczęściej stosowanym sposobem generowania układów o większej stabilności jest dodatek niekoniecznie prozdrowotnych stabilizatorów. Jednak wzrost stabilności może być także wywoływany poprzez indukowanie na cząstkach stałych budujących układ dodatkowych ładunków jednoimiennych, które odpychając się zapewniają większą stabilność. Jak wynika z przedstawionych danych, obróbka plazmowa soku poprawiła jego stabilność koloidalną (mniejsze wartości TSI), co jest zgodne z wynikami analizy zmian potencjału dzeta badanych układów (Rys. 3d). Przyczyną poprawy stabilności koloidalnej soków poprzez plazmowanie są najprawdopodobniej zmiany składu i morfologii składników soku poddanych takiej obróbce. Substancje pochodzące ze zjonizowanego gazu mogą reagować zarówno z fazą ciekłą jak i stałą soku, a zmiany pojawiające się w układzie w efekcie tych oddziaływań najprawdopodobniej powodują powstanie dodatkowych ładunków jednoimiennych, które odpychając się, stabilizują układ.



Rys. 4. Wpływ obróbki plazmowej na stabilność soku marchwiowego (n = 3)

Fig. 4. Influence of plasma treatment on the stability of carrot juice (n = 3)

Tabela 2 przedstawia analizę ilościową SEM-EDX składu powierzchniowego wysuszonego soku marchwiowego przed trzydziestominutową obróbką zimną plazmą i po niej. Pierwszą i najważniejszą obserwacją jest to, że składy pierwiastkowe próbek przed plazmowaniem i po nim nie różniły się od siebie w sposób jakościowy, natomiast występowały niewielkie różnice ilościowe. Oznacza to, że zimna plazma zmienia jedynie morfologię powierzchni, ale nie jej skład.

Tabela 2. Skład pierwiastkowy [% masowy] powierzchni suszu marchwiowego przed obróbką plazmową i po niej (n = 3, średnia ± odchylenie standardowe)

Table 2. Elemental composition [mass %] of dried carrot surface before and after plasma treatment (n = 3, mean ± standard deviation)

Pierwiastek / Element	Kontrola / Control	Plazma 30 min / Plasma 30 min	Pierwiastek / Element	Kontrola / Control	Plazma 30 min / Plasma 30 min
C	48,77 ^a ±1,75	52,34 ^b ±1,81	Ca	0,64 ^a ±0,21	0,36 ^a ±0,21
O	38,57 ^a ±1,01	37,33 ^a ±2,11	Mg	0,52 ^b ±0,12	0,22 ^a ±0,04
K	5,68 ^b ±0,21	4,69 ^a ±0,32	Na	0,31 ^a ±0,04	0,38 ^a ±0,04
N	3,12 ^a ±0,33	3,23 ^a ±0,52	S	0,19 ^a ±0,08	0,15 ^a ±0,02
P	1,05 ^b ±0,21	0,44 ^a ±0,09	Al	0,05 ^a ±0,02	0,05 ^a ±0,01
Cl	1,05 ^a ±0,16	0,77 ^a ±0,04	Si	0,05 ^a ±0,02	0,04 ^a ±0,01

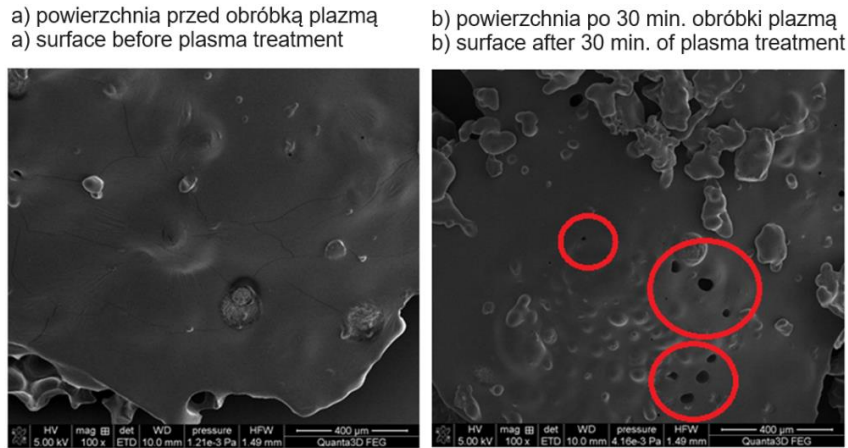
Objaśnienia / Explanatory notes:

^{a, b, c} – wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie przy $p \leq 0,05$ /

^{a, b, c} – values marked with different letters differ statistically significantly at $p \leq 0,05$

Dowody na zmiany morfologii przedstawione są na mikrofotografiach SEM (Rys. 5). Powierzchnia niepoddana obróbce plazmowej jest stosunkowo jednorodna i nie zawiera ubytków. Natomiast po 30 min plazmowania marchwi traci ciągłość i pojawiają się na niej liczne dziury będące efektem bombardowania powierzchni zimną plazmą. Efekt ten był obserwowany w każdej próbce poddanej działaniu niskotemperaturowej plazmy, ale nie występował w żadnej próbce przed obróbką plazmową. Obserwacja ta skłania do wniosku, że brak ciągłości próbek jest wynikiem działania plazmy.

Dane zestawione w tabeli 3 przedstawiają wyniki badań wartości odżywczych badanych soków marchwiowych. Zawartość substancji rozpuszczalnych (ekstraktu) w znaczącym stopniu determinuje jakość żywieniową napojów, wskazując na ilość substancji rozpuszczalnych w wodzie, głównie cukrów (glukozy, fruktozy, sacharozy), substancji azotowych organicznych i nieorganicznych (potasu, wapnia, fosforu, barwników, garbników), a także nietlotnych kwasów organicznych (cytrynowego czy jabłkowego). W przypadku soku kontrolnego w całym okresie przechowywania wartości



Rys. 5. Wpływ obróbki plazmowej na morfologię powierzchni suszu marchwiowego, powiększenie x100

Fig. 5. The influence of plasma treatment on the surface morphology of dried carrots, magnification x100

Tabela 3. Wpływ czasu działania plazmy na wybrane właściwości odżywcze soku marchwiowego (n = 3, średnia ± odchylenie standardowe)

Table 3. Effect of plasma treatment on selected nutritional properties of carrot juice (n = 3, mean ± standard deviation)

Czas działania plazmy (minuty) / Plasma operating time (minutes)	Czas przechowywania (dni) / Time of storage (days)		
	1	2	3
Ekstrakt (°Brix) / Extract (°Brix)			
0 (kontrola)	9,43 ^a ±0,06	9,50 ^a ±0,10	9,63 ^{abc} ±0,15
10	9,47 ^a ±0,06	9,53 ^{ab} ±0,06	9,77 ^{bcd} ±0,06
20	9,93 ^d ±0,06	9,83 ^{cd} ±0,06	10,00 ^d ±0,10
30	9,97 ^d ±0,12	9,87 ^{cd} ±0,06	9,83 ^{cd} ±0,06
Karotenoidy (mg/100 g) / Carotenoids (mg/100 g)			
0 (kontrola)	13,87 ^d ±0,30	11,15 ^b ±0,06	10,43 ^a ±0,06
10	13,03 ^c ±0,20	10,62 ^{ab} ±0,37	10,44 ^a ±0,16
20	14,77 ^e ±0,30	14,78 ^e ±0,06	14,04 ^d ±0,08
30	15,02 ^e ±0,08	17,52 ^f ±0,01	17,12 ^f ±0,40
Polifenole (mg/100 ml) / Polyphenols (mg/100 cm ³)			
0 (kontrola)	21,55 ^{fg} ±0,50	17,97 ^d ±0,17	16,72 ^{ab} ±0,17
10	20,83 ^f ±0,04	17,31 ^{abc} ±0,91	17,48 ^{bc} ±0,26
20	22,27 ^g ±0,35	18,68 ^d ±0,39	16,39 ^a ±0,13
30	24,29 ^h ±0,26	21,20 ^f ±0,09	19,85 ^e ±0,22

Objaśnienia / Explanatory notes:

a, b, c – wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie przy $p \leq 0,05$ /

a, b, c – values marked with different letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$

ekstraktu zawierały się w przedziale $9,4 \div 9,8$ °Brix. Nieznaczny wzrost zawartości ekstraktu w sokach poddanych działaniu zimnej plazmy można tłumaczyć utratą wody podczas obróbki.

Karotenoidy to grupa związków, które nie tylko nadają apetyczny wygląd warzywom czy owocom, ale także ze względu na właściwości antyoksydacyjne mają istotne znaczenie dla zdrowia człowieka. W pierwszym dniu badań kontrolny sok marchwiowy odznaczał się zawartością karotenoidów równą 13,87 mg/100 g, natomiast obróbka plazmą przez 30 minut spowodowała nieznaczny wzrost zawartości tych związków.

Czas przechowywania wynoszący 3 dni spowodował zmniejszenie (w porównaniu z sokiem z pierwszego dnia) ilości badanych związków o blisko 25 % w przypadku soku kontrolnego. Natomiast w próbkach napoju traktowanego zimną plazmą przez 30 minut zaobserwowano zwiększenie zawartości karotenoidów o 13 %. Może być to skutkiem zwiększonej ekstrakcji barwników z matrycy tkanki surowca. Wzrost zawartości karotenoidów w pomidorach w wyniku nietermicznej obróbki pulsacyjnym polem elektrycznym opisali González-Casado i wsp. [7].

W kształtowaniu właściwości przeciwutleniających napojów istotną rolę odgrywają również związki zaliczane do grupy polifenoli. Świeżo tłoczony sok marchwiowy po 1 dniu przechowywania cechował się średnią ilością tych antyoksydantów wynoszącą 21,55 mg/100 cm³, która to wartość po 3 dniach spadła o blisko 22 %. Najwyższą zawartością związków polifenolowych charakteryzowały się soki poddane działaniu plazmy przez 30 minut w pierwszym dniu analiz. Jednak ich ilość w czasie 72 godzin obniżała się o przeszło 18 % w stosunku do wartości początkowych. W niektórych owocach część związków fenolowych jest związana z błoną komórkową i do ich uwolnienia potrzeba pewnego nakładu energii. Jak podają Hau i in. [9] zwiększenie zawartości polifenoli w sokach poddanych obróbce zimną plazmą może być wynikiem rozpadu wiązań kowalencyjnych i błon komórkowych pod wpływem chemicznie reaktywnych związków, naładowanych cząsteczek i promieniowania UV powstających w trakcie działania zimnej plazmy.

Wnioski

1. Zastosowana obróbka soku marchwiowego zimną plazmą poprawiła jego jakość mikrobiologiczną w stosunku do próby kontrolnej. Traktowanie soku plazmą przez 20 i 30 minut pozwoliło otrzymać produkt zgodny z wymaganiami zawartymi w Codex Standards w odniesieniu do zawartości całkowitej liczby tlenowych mikroorganizmów mezofilnych w soku jadalnym.
2. W wyniku traktowania soku zimną plazmą przez 30 minut uzyskano produkt charakteryzujący się lepszą stabilnością koloidalną oraz wyższą zawartością karotenoidów i polifenoli niż w próbie kontrolnej.

3. Wyniki wskazują, że 30-minutowa obróbka zimną plazmą z zastosowaniem reaktora Glide-arc pozwala wydłużyć trwałość przechowalniczą soku marchwiowego, który dodatkowo charakteryzuje się zwiększoną stabilnością koloidalną i wartością odżywczą, stąd też ma potencjał do praktycznego zastosowania w przemysłowej produkcji soków i innych napojów.

Projekt został sfinansowany przez Związek Uczelni Lubelskich z programu pn: „INTERPROJEKT” grant no. INT/004/2022/I-N. Autorzy dziękują uczestnikom inicjatyw COST CA19110 (Plasma applications for smart and sustainable agriculture), COST CA20114 (Therapeutical applications of Cold Plasmas) oraz CEEPUS CIII-AT-0063 za owocne dyskusje naukowe w obszarze dekontaminacji plazmowej.

Literatura

- [1] Boenig H.: Plasma science and technology. Cornell University Press, 2019.
- [2] Brust H., Wannicke N., Park G.: (2023). Agriculture and Food Processing Applications. In: Plasma Biosciences and Medicine. Eds. E.H. Choi. Springer Singapore, 2023, pp.111-227.
- [3] Dasan B.G., Boyaci I.H.: Effect of cold atmospheric plasma on inactivation of *Escherichia coli* and physicochemical properties of apple, orange, tomato juices, and sour cherry nectar. Food Bioproc. Technol., 2018, 11, 334-343.
- [4] de Castro D.R.G., Mar J.M., da Silva L.S., da Silva K.A., Sanches E.A., de Araújo Bezerra J., Campelo P.H.: Dielectric barrier atmospheric cold plasma applied on camu-camu juice processing: Effect of the excitation frequency. Food Res. Int., 2020, 131, 109044.
- [5] Fernandes F.A., Rodrigues S.: Cold plasma processing on fruits and fruit juices: A review on the effects of plasma on nutritional quality. Processes, 2021, 9(12), 2098.
- [6] Florescu I., Radu, I., Teodoru A., Gurau, L., Chireceanu, C., Bilea F., Magureanu M.: Positive Effect Induced by Plasma Treatment of Seeds on the Agricultural Performance of Sunflower. Plants, 2023, 12, 794.
- [7] González-Casado S., Martín-Belloso O., Elez-Martínez P., Soliva-Fortuny R.: Enhancing the Carotenoid Content of Tomato Fruit with Pulsed Electric Field Treatments: Effects on Respiratory Activity and Quality Attributes. Postharvest Biol. Technol., 2015, 137, 113-118.
- [8] Guo J., Huang K., Wang J.: Bactericidal effect of various non-thermal plasma agents and the influence of experimental conditions in microbial inactivation: A review. Food Control, 2015, 50, 482-490.
- [9] Hou Y., Wang R., Gan Z., Shao T., Zhang X., He M., Sun, A.: Effect of cold plasma on blueberry juice quality. Food Chem., 2019, 290, 79-86.
- [10] Kučerová K., Henselová M., Slovákova L., Bačovčinová M., Hensel K.: Effect of plasma activated water, hydrogen peroxide and nitrates on lettuce growth and its physiological parameters. Appl. Sci. 2021, 11(5), 1985.
- [11] Lachowicz S., Kolniak-Ostek J., Oszmiański J., Wiśniewski R.: Comparison of Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Bear Garlic (*Allium ursinum* L.) in Different Maturity Stages. J. Food Process. Preserver, 2017, 41, e12921.

- [12] Mandal R., Singh A., Singh A.P.: Recent developments in cold plasma decontamination technology in the food industry. *Trends Food Sci. Technol.*, 2018, 80, 93-103.
- [13] Morabit Y., Hasan M.I., Whalley R.D., Robert E., Modic M., Walsh J.L.: A review of the gas and liquid phase interactions in low-temperature plasma jets used for biomedical applications. *Eur. Phys. J. D*, 2021, 75, 1-26.
- [14] Niedźwiedź I., Waško A., Pawłat J., Polak-Berecka M.: The state of research on antimicrobial activity of cold plasma. *Polish J. Microbiol.*, 2019, 68(2), 153-164.
- [15] Niveditha A., Pandiselvam R., Prasath V.A., Singh S.K., Gul K., Kothakota A.: Application of cold plasma and ozone technology for decontamination of *Escherichia coli* in foods-a review. *Food Control*, 2021, 130, 108338.
- [16] Ozen E., Singh R.K.: Atmospheric cold plasma treatment of fruit juices: A review. *Trends Food Sci. Technol.*, 2020, 103, 144-151.
- [17] Pawłat J.: Atmospheric pressure plasma jet for decontamination purposes. *Eur. Phys. J. – Appl. Phys.*, 2013, 61(2), 24323.
- [18] Platta A., Śmigaj, K.: Ocena akceptacji żywności o właściwościach prozdrowotnych przez kobiety w wieku 60+. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2021, 28, 3(128), 117-132.
- [19] Puač N., Škoro N., Spasić K., Živković S., Milutinović M., Malović G., Petrović Z.L.: Activity of catalase enzyme in *Paulownia tomentosa* seeds during the process of germination after treatments with low pressure plasma and plasma activated water. *J. Plasma Proc. Polym.*, 2018, 15(2), 1700082
- [20] Sobhatzadeh F., Yazdanshenas H., Soltani A.H., Shabannejad A.: An innovative strategy to rapidly inactivate 8.2-log *Enterococcus faecalis* in fresh pineapple juice using cold atmospheric plasma. *Sci. Rep.*, 2021, 11(1), 16010.
- [21] Starek A., Pawłat J., Chudzik B., Kwiatkowski M., Terebun P., Sagan A., Andrejko D.: Evaluation of selected microbial and physicochemical parameters of fresh tomato juice after cold atmospheric pressure plasma treatment during refrigerated storage. *Sci. Rep.*, 2019, 9(1), 8407.
- [22] Starek-Wójcicka A., Sagan A., Terebun P., Kwiatkowski M., Osmólska E., Krajewska M., Pawłat J.: Quality of Tomato Juice as Influenced by Non-Thermal Air Plasma Treatment. *Appl. Sci.*, 2022, 13(1), 578.
- [23] Suspension Stability: The importance of zeta potential, particle size and rheology. [on line]. Malvern Panalytical. Dostęp w Internecie [19.09.2023].
- [24] Trebulová K., Krčma F., Skoumalová P., Kozáková Z., Machala Z.: Effects of different cold atmospheric-pressure plasma sources on the yeast *Candida glabrata*. *Plasma Process. Polym.*, 2023, e2300048.
- [25] Waghmare R.: Cold plasma technology for fruit based beverages: A review. *Trends Food Sci. Technol.*, 2021, 114, 60-69.
- [26] Wiktor A., Śledź M., Nowacka M., Witrowa-Rajchert D.: Możliwości zastosowania niskotemperaturowej plazmy w technologii żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, 5(90), 5-14.

THE EFFECT OF COLD ATMOSPHERIC PLASMA TREATMENT ON THE QUALITY OF FRESH PRESSED CARROT JUICE

S u m m a r y

Introduction. The growing interest of consumers in purchasing minimally processed food that retains various bioactive ingredients has led to the need to investigate the impact of a new low-temperature

preservation method on the quality characteristics of freshly pressed carrot juice (Nerac variety). The influence of plasma gas (air) generated in a Glide-arc reactor operating at atmospheric pressure on microbiological, physicochemical and structural changes in product samples was analyzed. Three groups of juices characterized by different exposure times to plasma (10, 20, 30 minutes) and untreated juice (control) were used for the study. The properties of the juices were assessed after 1, 2 and 3 days of storage in a refrigerator at 6 °C.

Results and conclusions. The tests showed that the juices exposed to plasma for 20 and 30 minutes were characterized by good, stable microbiological quality even after 3 days of refrigerated storage. Compared to the control sample, an increase in colloidal stability and, what is important, in the content of the extract, carotenoids and polyphenols was also observed in the products. An EDX analysis showed that the elemental compositions of the samples before and after plasma plating did not differ qualitatively, but there were slight quantitative differences. However, in all the samples of juice treated with cold plasma, a slight reduction in the brightness of the products and the chromaticity indices a^* and b^* was observed. In general, the results of the conducted research indicate that cold plasma treatment is a promising technique that can ensure better quality and greater colloidal stability during the processing of carrot juice, and the product treated in this way is characterized by better physicochemical properties and a greater amount of bioavailable nutrients.

Key words: freshly pressed carrot juice, cold plasma, microbiological stability, nutritional values, colloidal stability, zeta potential ☒