Utjecaj postupka pripreme i zamrzavanja te skladištenja na kvalitetu kaše borovnice

Perić, Katarina

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:920561

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

prehrambeno biotehnološki fakultet

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno – biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Katarina Perić

6621/PT

UTJECAJ POSTUPKA PRIPREME I ZAMRZAVANJA TE SKLADIŠTENJA NA KVALITETU KAŠE BOROVNICE

ZAVRŠNI RAD

Modul: Kemija i tehnologija voća i povrća

Mentor: prof. dr. sc. Branka Levaj

Zagreb, 2016.

Ovaj rad je izrađen u okviru projekta Primjena vakuumskog hlađenja u proizvodnji hrane produljene trajnosti i svježine (V^{H}_{T}-HRANA) financiranog sredstvima Hrvatske zaklade za znanost.

DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno – biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno – tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za procese konzerviranja i preradu voća i povrća

UTJECAJ POSTUPKA PRIPREME I ZAMRZAVANJA TE SKLADIŠTENJA NA KVALITETU KAŠE BOROVNICE

Katarina Perić, 6621/PT

Sažetak:

Cilj rada bio je istražiti utjecaj načina pripreme i zamrzavanja te skladištenja na parametre kvalitete, senzorska svojstva, ukupne fenole i antioksidacijski kapacitet pirea borovnice. Pire svježe borovnice sorte Jersey prije zamrzavanja bio je predtretiran blanširanjem i ultrazvukom visokog intenziteta (UZ), te je kao kontrolni uzorak služio pire bez predtretmana. Zamrzavanje na temperaturu -18 °C provedeno je uz izlaganje visokim tlakom, te konvencionalno u komori (kontrola). Zamrznuti pirei skladišteni su tijekom četiri mjeseca, također, na temperaturi -18 °C. Analize su provedene prije i nakon 4 mjeseca skladištenja. Tijekom skladištenja najmanje promjene topljive suhe tvari, pH, ukupne kiselosti i boje određene su u netreretirani pireu zamrznutom u komori. U svim uzorcima došlo je do povećanja antioksidacijskog kapaciteta i višestrukog povećanja udjela ukupnih fenola. Bolje očuvana senzorska svojstva određena su u pireima zamrznutim u komori i to okus u blanširanom pireu, a izgled u onom tretiranom UZ.

Ključne riječi: borovnica, zamrzavanje, visok tlak, fenoli, antioksidacijska aktivnost

Rad sadrži: 33 stranice, 10 slika, 7 tablica, 33 literaturnih navoda, 0 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: *prof. dr. sc. Branka Levaj*

Pomoć pri izradi: *dr. sc. Maja Repajić*

Rad predan: srpnja 2016.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Undergraduate studies Food Technology

Department of Food Engineering

Laboratory for Technology of Fruits and Vegetables Preservation and Processing

BLUEBERRY PULP QUALITY UPON PRETREATMENT, FREEZING AND STORING

Katarina Perić, 6621/PT

Abstract:

The aim of this study was to investigate the influence of different way of pre-treatment and freezing, as well as storing at -18°C on the quality parameters, sensory attributes, total phenols and antioxidant capacity of blueberry pureés. Pureé of fresh blueberry (var. Jersey) before freezing was treated by blanching and high intensity ultrasound (US), and as a control sample was pureé without pre-treatment. Freezing at -18 °C was conducted with exposure to high pressure, and in the chamber (conventional way as control). Frozen pureés were stored for four months, also at temperature - 18 °C. Analyses were performed before and after 4 months. During storage the least changes of soluble solids, pH, total acidity and color were determined in untreated pureé frozen in the chamber. In all samples, there was a higher antioxidant capacity and multiple increase of total phenols. Sensory attributes of pureés frozen in the chamber and stored 4 months were better scored especially the taste of the blanched pureé, and the appearance of the ultrasound treated pureé.

Keywords: blueberries, freezing, high pressure freezing, phenols, antioxidant capacity

Thesis contains: 33 pages, 10 figures, 7 tables, 33 references, 0 supplements

Original in: Croatian

Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: *PhD. Branka Levaj, Full Professor*

Technical support and assistance: *PhD. Maja Repajić*

Thesis delivered: July 2016.

Sadržaj

1. Uvod 1

2. Teorijski dio 2

2.1. Borovnica 2

2.1.1. Botaničke karakteristike 3

2.1.2. Kemijska i fizikalna svojstva 3

2.1.2.1. Flavonoidi 6

2.1.2.2. Antioksidansi 6

2.2. Zamrzavanje 7

2.2.1. Zamrzavanje pod visokim tlakom 8

2.2.2. Zamrzavanje uz pred-tretiranje blanširanjem i ultrazvukom 9

3. Eksperimentalni dio 11

3.1. Materijali 11

3.2. Metoda rada 13

3.2.1. Određivanje boje 13

3.2.2. Određivanje ukupne kiselosti, topljive suhe tvari i pH 15

3.2.3. Određivanje ukupnih fenola 17

3.2.4. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta 19

3.2.5. Senzorska svojstva 22

4. Rezultat 23

5. Rasprava ..... Error! Bookmark not defined.

6. Zaključak 29

7. Literatura 30

1. Uvod

Borovnica je grmolika biljka koja pripada rodu *Vaccinium*- i prepoznatljivo je bobičasto voće s velikim udjelom folne kiseline, antocijana, flavonoida, kalija, kalcija, željeza i vitamina C. Zbog svog visokog sadržaja vode, male energetske vrijednosti te ugodne arome i okusa, te zbog vrijednog kemijskog sastava borovnica je pronašla široku primjenu u ljudskoj prehrani s brojnim pozitivnim učincima na zdravlje. Borovnice su bogate antioksidansima tvarima koje su sposobne stabilizirati ili inaktivirati slobodne radikale prije nego napadnu i oštete stanice.

Zbog kratkog vremena dospijeća i brzog propadanja borovnica se konzervira i preađuje u brojne proizvode. Jedan od najučinkovitijih procesa konzerviranja koji najmanje mijenja izvornu sirovinu je zamrzavanje.

Zamrzavanje je jedna od najčešće primjenjivanih metoda konzerviranja raznih namirnica. Tijekom zamrzavanja i skladištenja na -18 ^{o}C kemijske reakcije se ne zaustavljaju nego samo jako usporavaju stoga se javlja potreba tretiranja pirea neposredno prije zamrzavanja u svrhu smanjenja ukupnog broj mikroorganizama i inaktivacije enzima. Uobičajeno se u tu svrhu koristi blanširanje, no povišena temperatura može imati za posljedicu promjenu parametara kvalitete. Iz tog se razloga pokušava pronaći metoda koja se ne provodi pri visokim temperaturama, a djelotvorna je za mikroorganizme i inaktivaciju enzima. Kao takva metoda istaknuo se ultrazvuk visokog intenziteta.

Cilj rada bio je istražiti utjecaj načina pripreme i zamrzavanja te skladištenja, 4 mjeseca na temperaturi od -18 ^{o}C, na parametre kvalitete, senzorska svojstva, ukupne fenole i antioksidacijski kapacitet pirea borovnice.

2. Teorijski dio

2.1. Borovnica

Borovnica (*Vaccinium myrtillus*) je malena višegodišnja biljka koja pripada skupini bobičastog voća (Slika 1). Rod Vaccinium obuhvaća relativano velik broj vrsta no u Hrvatskoj su nativne samo tri (*V. myrtillus L., V. uliginosum L., V. vitis-idaea L.)* (Dujmović Purgar i sur., 2007). Kao što je to slučaj i s drugim samoniklim vrstama voća, tako se ni u slučaju roda *Vaccinium* nije provelo detaljnije istraživanje rasprostranjenosti vrsta.

Paprstein i sur (2006) navode kako rod *Vaccinium* obuhvaća oko 450 kultivara koji su raspoređeni preko sjeverne hemisfere. Flora Europe vrlo je siromašna borovnicama – sadrži 8 vrsta, pri čemu je jedna vrsta endemska na Azorima. U Sjevernoj Europi borovnica je jedna od najvažnijih divljih bobica. Postoji veliki interes širom svijeta za plodom borovnice zbog vrlo visokog sadržaja antioksidansa (Riihinen i sur., 2008).

Botanička klasifikacija borovnice (USDA, 2016.) :

Carstvo: *Plantae*
Odjeljak: *Spermatophyta (sjemene)*
Divizija: *Magnoliophyta (cvjetnice)*
Razred: *Magnoliopsida (dikotiledoni)*
Red: *Ericales*
Porodica: *Ericaceae*
Potporodica: *Vacciniaceae*
Rod: *Vaccinium*
Vrsta: *Vaccinium L. –borovnica*



Slika 1 Borovnica (Anonymus, 2016)

2.1.1. Botaničke karakteristike

Borovnica je grmolika biljka, koja ovisno o vrsti, može narasti i do nekoliko metara. Prekriva tlo bjelogoričnih i crnogoričnih šuma. Pretežno raste u nizinskim krajevima, ali može se pronaći i u planinskim područjima do 2000 m nadmorske visine (Šindrak i sur., 2007).

Vrlo razgranat grm može narasti do visine 20-50 cm. Listovi su ovalno-jajoliki na rubu jedva vidljivo pilasti s kratkom peteljkom. Cvjetovi su svijetloružičasti i smješteni su u pazuhu lista. Borovnica cvate od lipnja do kolovoza ovisno o položaju staništa. Plod je sočna boba tamnoplave boje, prosječne veličine 6-8 mm. Vrh ploda završava kružnom udubinom (Šindrak i sur., 2007).

2.1.2. Kemijska i fizikalna svojstva

Kemijski sastav je uvelike definiran okolišnim čimbenicima, stupnjem zrelosti kao i uvjetima skladištenja. Veliki utjecaj na okus, miris i boju ima kemijski sastav u kojem prevladava voda s 84,61 % te ugljikohidrati sa svega 13,02 % (USDA, 2016.). Stoga je energetska vrijednost niska – 55 kcal/100 g, no zbog velikog udjela prehrambenih vlakana (5,3 g/100 g) g koji smanjuju razinu kolesterola i glukoze u krvi bitno utječući tako na ljudsko zdravlje (Bauer, 2005). Nadalje, zahvaljujući prisutnim vlaknima unosom borovnica se izaziva efekt sitosti i pozitivno se utječe na probavu smanjujući tako rizik od crijevnih bolesti. U Tablici 1. prikazan je kemijski sastav i nutritivna vrijednost svježe borovnice.

Tablica 1 Kemijski sastav u 100 g svježe borovnice (USDA, 2016)

Sastav	Jedinica	Vrijednost
Voda	g	84,61
Energija	kcal	55
Proteini	g	1,52
Ukupni lipidi	g	0,31
Ugljikohidrati	g	13,02
Vlakna	g	5,3
Šećeri	g	7,7

U Tablici 2. dani su rezultati sastava vitamina ploda borovnice (USDA, 2016). U plodu borovnice dominira askorbinska kiselina.

Tablica 2 Sastav vitamina ploda borovnice (USDA, 2016)

Sastav	Jedinica	Vrijednost
Vitamin C	mg	15,3
Riboflavin	mg	0,05
Niacin	mg	0,034
Vitamin B-12	µg	0
Vitamin A	µg	2
Vitamin E	mg	0,87
Vitamin D	µg	0
Vitamin K	µg	7,8

U ljudskoj prehrani vrlo je važna odgovarajuća količina minerala. Određeni minerali su građevni elementi, budući da se nalaze u tkivu i stanicama (makroelementi). Drugi, čija je razina vrlo mala značajni su za fiziološku ravnotežu organizma (mikroelementi). U Tablici 3. prikazani su rezultati (USDA. 2016) prema kojem su vidljive velike razlike u koncentraciji biogenih elemenata u plodu borovnice. Zn, Fe i Na nalaze se u koncentracijama od 0,34 do 1 mg/100 g, a K je nađen u koncentraciji od 145 mg/100 g suhe tvari.

Tablica 3 Sastav minerala ploda borovnice (USDA, 2016)

Sastav	Jedinica	Vrijednost
Kalcij, Ca	mg	26
Željezo, Fe	mg	0,64
Magnezij, Mg	mg	21
Fosfor, P	mg	26
Kalij, K	mg	145
Natrij, Na	mg	1
Cink, Zn	mg	0,34

Uz spomenut vitamin C, kao i kalij, željezo te kalcij, borovnice su izvrstan izvor folne kiseline, antocijana i drugih flavonoida (Prior i sur., 1998.).

Prior i sur. (1998.) su ustanovili u svom istraživanju da plod borovnice u usporedbi s ostalim bobičastim voćem sadrži visoku količinu antocijana, spojeva jake anioksidacijske aktivnosti, te se ta količina povećava u procesu dozrijevanja (Jaakola i sur. 2002.).

Zbog velike količine prisutnih vitamina, minerala, vlakana i antioksidansa, plod borovnice značajno utječe na očuvanje zdravlja.

2.1.2.1. Flavonoidi

Antocijani kojima se po količini prisutnih u plodu različite vrste i sorte borovnica (Vaccinium sp.) ističu se od ostalog bobičastog voća, kao što je već rečeno, pripadaju skupini fenolnih spojeva (Prior i sur., 1998). Polifenolni spojevi kojima borovnica obiluje najvažnija su grupa sekundarnih biljnih metabolita i značajno doprinose njihovom ukupnom antioksidacijskom kapacitetu koji doprinosi antialergijskom te antikancerogenom djelovanju (Jakobek i sur, 2008). Do danas je poznato više od 8000 različitih struktura, a prema osnovnoj se strukturi dijele na flavonoide i fenolne kiseline (Pandey i Rizvi, 2009). Antocijani po svojoj strukturi pripadaju flavonoidima.

Flavonoidi su biljni pigmenti koji posjeduju difenilpropanski ($C_6C_3C_6$) prsten koji se sastoji od dva benzenska prstena povezana trikarbonskim mostom koji je preko kisika kondenziran u intermedijalni prsten. Obuhvaćaju više grupa spojeva, a to su npr. flavanoli, flavoni, monomerni flavanoli, flavonoli, antocijani i dr. (Belitz i sur., 2004). Antocijani su odgovorni za ljubičastu, crvenu i plavu boju voća, povrća i žitarica i poznato je više od 500 različitih spojeva antocijana. Glavni prisutni flavonoidi u borovnici su antocijani, flavan-3-oli i njihovi polimerni produkti kondenzacije, flavanoni, flavonoli i flavoni. U različitim stupnjevima ovi spojevi su snažni antioksidansi in vitro, sposobni inhibirati peroksidaciju lipida i zaštititi lipoproteine od oksidacije (Borges, 2009).

2.1.2.2. Antioksidansi

Antioksidansi su tvari koje sprječavaju oksidaciju drugih tvari, a u biološkim sustavima služe za neutralizaciju slobodnih radikala. Imaju sposobnost neutraliziranja potencijalno štetnog djelovanja slobodnih radikala, a da istodobno ne postanu oni sami nestabilni (Reuben, 1998).

Slobodni radikali su reaktivne molekule koje imaju jedan ili više nesparenih elektrona. Oduzimanjem elektrona od prve susjedne molekule oni postaju stabilni no pri tome ta susjedna molekula postaje slobodni radikal i tako se stvara lančana reakcija. Mogu uzrokovati oksidacijska oštećenja molekula DNA, masti i proteina čime uzrokuju oksidacijski stres koji je povezan sa starenjem i bolestima kao što su kancerogene bolesti, kardiovaskularne bolesti, neurodegenerativni poremećaji, dijabetes i dr. (Lu i Finkel, 2008).

Istraživanja su dokazala da povezanost prehrane bogatom voćem i povrćem bitno utječe na smanjenje rizika oboljenja od bolesti. Ovaj je odnos potaknuo daljnja istraživanja antioksidacijskog kapaciteta voća i povrća (Yang i sur., 2001).

Među spojevima s antioksidacijskim svojstvima koji su pronađeni u voću i povrću, fenolni se spojevi najviše ističu. Sastavni su dio ljudske prehrane, a također su dodani i u neke lijekove (Wu i sur., 2004). Svi dijelovi borovnice potencijalan su izvor fenolnih spojeva za uporabu ili kao prehrambeni proizvod ili u farmaceutskoj industriji (Riihinen i sur., 2008).

2.2. Zamrzavanje

Konzerviranje zamrzavanjem se temelji na činjenici da izdvajanjem vode u obliku kristala dolazi do zaustavljanja kemijskih, biokemijskih i mikrobioloških procesa. Zamrzavanje uvjetuje određene promjene u namirnici te je to vrlo bitno ako je cilju održavanje izvorne teksture i strukture (Lovrić, 2013). Što je zamrzavanje brže to zona maksimalne kristalizacije brže prolazi namirnicom što se smatra poželjnim za kvalitetu proizvoda (Lund, 2000). Kvaliteta smrznute hrane usko je povezana s količinom i veličinom kristala leda koji nastaju za vrijeme zamrzavanja. Stvaranje velikih kristala pokazalo se da rezultira degradacijom teksture i organoleptičkih svojstava te gubitkom kvalitete smrznutih proizvoda (Zhu i sur., 2003). Općenito je prihvaćeno da se smanjenjem brzine smrzavanja formiraju veliki stanični kristali leda, dok su rezultat brzog smrzavanja mali kristali leda (Fennema, 1973). Kvaliteta smrznute hrane usko je povezana i s procesima otapanja.

Snižavanjem temperature usporavaju se kemijske promjene u namirnicama koje su posljedica aktivnosti autohtonih enzima ili drugih kemijski agensa. Većina kemijski i biokemijskih reakcija se usporava 2 do 3 puta pri snižavanju temperature za 10 ^{o}C. Usporava se i metabolizam živih tkiva. Važno je provesti zamrzavanje namirnica što brže na odgovarajuću temperaturu i održavati ju tijekom transporta, skladištenja do krajnje uporabe (Lovrić, 2013).

Promjene koje se događaju za vrijeme zamrzavanja se nastavljaju i za vrijeme skladištenja. One se mogu podijeliti u tri grupe:

1. Dehidratacija
2. Rekristalizacija leda (variranje temperature od -7 ^{o}C do -15 ^{o}C)
3. Promjene kemijske i biokemijske prirode

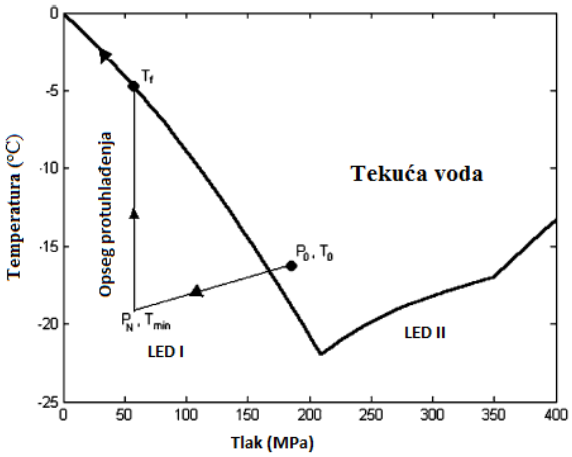
Promjene koje nastaju više su izražene u organoleptičkim svojstvima nego u prehrambenoj vrijednosti no potrebno je obratiti pažnju i na gubitke prehrambene vrijednosti. Prilikom izlaska sokova gube se lako topljive tvari, vitamini i minerali. Istraživanja su pokazala da promjene koje se događaju ovise o temperaturi.

Čimbenik koji je bitan s ekonomskog i tehničkog aspekta je dehidratacija uskladištenih prehrambenih proizvoda. Gubitak na proizvodu je praćen smanjenjem kvalitete namirnice (promjena boje, pH, površina postaje žilavija itd.). Dehidratacija je rezultat razlike tlaka para između proizvoda i rashladnih površina (Lovrić, 2013)

2.2.1. Zamrzavanje pod visokim tlakom

Primjenom visokog tlaka za zamrzavanje pomaže se ujednačenoj i bržoj nukleaciji leda kroz cijeli proizvod (Li i Sun, 2002). Kad se voda zamrzava pri atmosferskom tlaku nastajat će led tipa I što rezultira povećanjem volumena od oko 9 % s obzirom da je gustoća leda manja od vode. Uz primjenu visokog tlaka formirat ce se nekoliko tipova leda (led II-IX) čija je gustoća veća od gustoće vode te zbog toga neće dolaziti do oštećenja tkiva (Li i Sun, 2002).

Nadalje, u svom radu Torres-Ossandón i sur. (2015) navode da dolazi do porasta fenolnih spojeva i antioksidacijskog kapaciteta raznog voća tretiranog visokim tlakom. Također, zamrzavanje visokim tlakom pokazalo se kao metoda koja je djelotvorna na smanjenje broja mikroorganizma, a da ne utječe značajno na degradiranje kvalitete smrznutih namirnica.



Slika 2 Zamrzavanje visokim tlakom (Otero, 2006)

2.2.2. Zamrzavanje uz pred-tretiranje blanširanjem i ultrazvukom

Tijekom zamrzavanja i skladištenja biokemijske se reakcije ne zaustavljaju nego samo usporavaju, što onda za posljedicu može imati promjenu parametara kvalitete, stoga postoji potreba za pred-tretmanom pirea neposredno prije zamrzavanja na -18 °C radi inaktivacije enzima i smanjena broja mikroorganizama odnosno zadržavanja početne kvalitete.

U cilju postizanja veće kvalitete zamrznutog proizvoda jedan od redovitih postupaka je blanširanje odnosno zagrijavanje na temperaturu od 75 do 95 °C kroz 1-10 minuta (Arthey, 1995). Pred-tretiranjem inaktivirali su se enzimi i smanjio inicijali broj mikroorganizama (Lund, 2000). U svom radu Brambilla i sur. (2011) ističu kako su u blanširanom zamrznutom pireu borovnice dobro očuvani fenolni bioaktivni spojevi.

S obzirom da povišene temperature kojima je voće izloženo tijekom blanširanja mogu negativno utjecati na kvalitetu, posljednjih nekoliko godina vrlo je zapažen tretman ultrazvukom visokog inzenziteta koji se koristi kao netermalna metoda za smanjenje mikrobiološke kontaminacije i produljenja trajnosti svježeg voća i povrća (Aday i sur., 2013). Zahtjevi potrošača prema hranjivijim i sigurnijim namirnicama s dobrim organoleptičkim svojstvima promovirali su konstantnu evoluciju tehnologije u preradi hrane.

Primjena ultrazvuka doprinosi povećanju mikrobne sigurnosti i produljenju roka trajnosti posebno na hrani koja je temperaturno osjetljiva. Ultrazvuk su zvučni valovi frekvencije od 20 kHz do 10 MHz. Veća snaga ultrazvuka pri nižim frekvencijama (20 do 100 kHz) ima

sposobnost uzrokovanja kavitacije koja ima prednost pri procesiranju hrane u kojoj je bitno inaktivirati mikroorganizme (Piyasena i sur., 2003). Glavna prednost ultrazvuka u odnosu na druge tehnike u prehrambenoj industriji je da se zvučni valovi općenito smatraju netoksičnim i sigurnim za okoliš (Kentish and Ashokkumar, 2011).

Kombinacijom ultrazvuka s nekim ne-toplinskim metodama moguće je poboljšati inaktivaciju mikroorganizama (Guerrero i sur., 2001). Sa stajališta potrošača, primjena ultrazvuka u prehrambenoj industriji ima potencijala te započeta istraživanja treba nastaviti.

3. Eksperimentalni dio

3.1. Materijal

Istraživanje je provedeno s pireom borovnica sorte Jersey uzgojenih u okolici Zagreba. Plodovi borovnice su nabavljeni neposredno prije istraživanja, direktno od proizvođača u srpnju 2015. godine, te je od njih u laboratorijskim uvjetima priređen pire te je na raličite načine tretiran i zamrznut te je skladišten. Nakon tretmana i zamrzavanja te nakon skladištenja je analiziran kako bi se utvrdio utjecaj različitih postupaka.

Priprema pirea

Priprema pirea obuhvaćala je sljedeće operacije:

- Homogenizacija
- Pred-tretiranje (blanširanjem ili ultrazvukom)
- Zamrzavanje
- Pakiranje
- Čuvanje uzorka

Borovnice nisu prane prije pripreme za zamrzavanje.
Homogenizacija cca 500g borovnica u svrhu pripreme pirea je provedena pomoću štapnog miksera (Philips) u posudi od 1L.

Blanširanje pirea je provedeno u hermetički zatvorenoj staklenoj bočici od 300 mL (početne temperature približno 20 ºC) uranjanjem u vruću vodenu kupelj u vremenu trajanja od 10 minuta. Tijekom 8 minuta pire se zagrijao na 85 ºC i na toj se temperaturi održavao 2 minute. Nakon isteka vremena bočice su postepeno hlađene uranjanjem u vodene kupelji prvo oko 50 ºC, pa 40 ºC te 30 ºC i niže.

Tretiranje pirea ultrazvukom je provedeno na laboratorijskom uređaju Dr. Hielscher Ultrasonic Processor UP 400 S uz pomoć sonde promjera 22 mm, pri amplitudi 100 % u trajanju od 5 minuta (Slika 4).

Pire borovnice cca 200 mL tretiran je u staklenoj čaši od 400 mL uz povremeno miješanje staklenim štapićem (Slika 4).



Slika 3 Zamrzavanje uz primjenu visokog tlaka



Slika 4 Ultrazvučni tretman pirea

Nakon blanširanja te ultrazvučnog tretmana pire je prenesen u plastične bočice od 100 mL u kojima je provedeno zamrzavanje.

Zamrzavanje se provodilo na dva načina:

- Kao kontrola zamrzavanje je provedeno u komorama za zamrzavanje pri – 18 ^{o}C (Everlasting S.R.L., Italija). Zamrzavanje je trajalo 120 minuta.
- Zamrzavanje pod visokim tlakom je provedeno u uređaju za tretiranje visokim tlakom (Slika 3). Šest bočica je stavljeno u posudu s glikolom te izloženo hidrostatskom pritisku od 300 MPa 30 minuta prije odnosno 30 minuta nakon zamrzavanja.

Zamrznuti zapakirani uzorci su stavljeni u zamrzivač te skladišteni pri -18 °C 4 mjeseca, nakon čega su provedene analize. U ovom radu su prikazani rezultati prije i nakon skladištenja pirea borovnice.

Tablica 4 Plan pokusa zamrzavanja

Uzorak	Zamrzavanje	Šifra uzorka	Skladištenje pri -18°C analize nakon (mjeseci)	
Pire borovnica	komora (ZK)	SVJ/ZK	0	4
	primjena visokog tlaka (ZVT)	SVJ/ZVT	0	4
Blanširani pire borovnice (BL)	komora (ZK)	BL/ZK	0	4
	primjena visokog tlaka (ZVT)	BL/ZVT	0	4
Pire borovnice tretiran ultrazvukom (UZ)	komora (ZK)	UZ/ZK	0	4
	primjena visokog tlaka (ZVT)	UZ/ZVT	0	4

3.2. Metoda rada

Određivana su senzorska svojstva pirea te parametri fizikalno-kemijskih svojstava:

- Boja
- pH
- Ukupna kiselost (%)
- Topljiva suha tvar (%)
- Ukupni fenoli (mg GAE/100 g)
- Antioksidacijski kapacitet (μM/100 g)

3.2.1. Određivanje boje

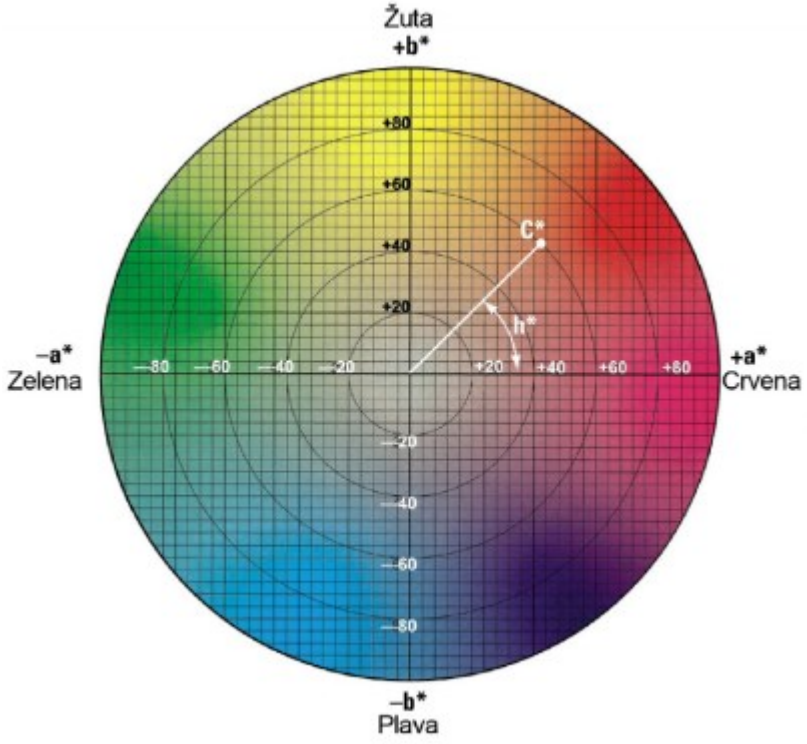
Princip: Objektivno određivanje boje provodi se kolorimetrom s mogućnošću određivanja čitavog vidljivog spektra, a takvo mjerenje se izražava u L*a*b* vrijednostima. Pozitivne a* vrijednosti govore u udjelu crvene boje, b* vrijednosti o udjelu plave dok L* vrijednost predstavlja svjetlinu uzorka. Uređaj radi na principu mjerenja stupnja reflektirane svjetlosti od mjerne površine (Konica-Minolta, 1998).

Aparatura i pribor: Kolorimetar CM-3500d (Konica-Minolta, Japan)

Staklene kivete

Postupak određivanja

Uzorak se prenese u staklene kivete i stavlja u kolorimetar na mjerenje. Kolorimetar je povezan sa računalom koje obrađuje i prikazuje dobivene rezultate u digitalnom obliku pomoću softwarea prilagođenog za uređaj.



Slika 5 CIE LAB (Anonymus, 2016)

3.2.2. Određivanje ukupne kiselosti, topljive suhe tvari i pH

Određivanje ukupne kiselosti

Aparatura i pribor: Erlenmeyerova tikvica
Staklena čaša
pH-metar

Reagens: NaOH (0,1 M)

Postupak određivanja

U Erlenmeyerovu tikvicu dodano je 12,5 ± 0,01 g kaše i 25 mL destilirane vode. Sadržaj je prenijet u odmjernu tikvicu od 50 mL koja je nadopunjena do oznake s prokuhanom destiliranom vodom. 10 mL filtrata otpipetirano je u čašu, uronjena je elektroda pH metra i titrirano je s 0,1 M NaOH do pH 7, a zatim polako do 8,1 ± 0,2. Za svaki je uzorak potrebno mjerenje izvršiti dva puta i rezultat prikazati kao srednju vrijednost i standardnu devijaciju.

Izračunavanje

Na temelju dobivenih rezultata, ukupna kiselost se izračunava uvrštenjem u jednadžbu (1):

$$UK(\%) = 50/m \times V_1 \times c \times 100/V_0 \times f \quad (1)$$

gdje je:

m = odvaga (g)
V_1 = volumen NaOH (mL)
c = koncentracija NaOH (0,1 M)
V_0 = volumen uzorka (10 mL)
f = faktor preračunavanja

Određivanje topljive suhe tvari

Aparatura i pribor: Refraktometar

Postupak određivanja

Refraktometar je optički uređaj koji pokazuje postotak suhe tvari u određenom uzorku na principu mjerenja indeksa loma svjetlosti. Na početku rada refraktometar (Slika 6) se baždari pomoću destilirane vode pri sobnoj temperaturi. Mala količina uzorka stavlja se na prizmu i prolaskom svjetlosti kroz različite tvari, svjetlost mijenja smjer te se pomoću izmjerenog kuta upadne i reflektirane svjetlosti može odrediti indeks loma, odnosno postotak suhe tvari uzorka. Određivanje topljive suhe tvari temelji se na očitavanju topljive suhe tvari izravno na zaslonu refraktometra. Za svaki uzorak mjerenje je izvršeno tri puta te je rezultat prikazan kao srednja vrijednost i standardna devijacija.

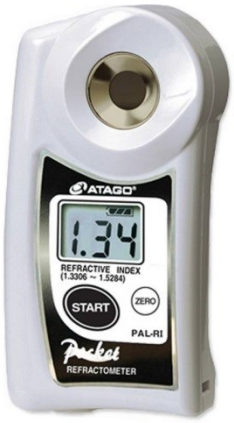
Određivanje pH

Aparatura i pribor: pH-metar

Staklena čaša

Postupak određivanja

pH se određuje uranjanjem elektrode u čašu s uzorkom i direktnim očitavanjem dobivene vrijednosti na pH-metru. Bitno je da se prije obavi baždarenje pH-metra za koje se upotrebljava puferna otopina poznatog pH na određenoj temperaturi.



Slika 6 Refraktometar (Anonymus, 2016.)

3.2.3. Određivanje ukupnih fenola

Princip određivanja:

Princip određivanja temelji se na kolornoj reakciji koja je posljedica reakcije fenola s Folin-Ciocalteu-ovim reagensom te je primjenom spektrofotometrijske metode mjeren intenzitet nastalog obojenja pri 765 nm (Ough i Amerine, 1988). Rezultati su izraženi kao mg ekvivalenta galne kiseline na mL soka (mg GAE mL-1).

Aparatura i pribor: Spektrofotometar
Staklene kivete
Tehnička vaga Mettler (točnost 0,01)
Povratno hladilo
Tronožac
Plamenik
Azbestna mrežica
Erlenmeyerova tikvica 250 mL
Filter papir
Stakleni lijevak
Pipete volumena 1, 2, 5, 10 i 25 mL
Odmjerne tikvice 100 mL i 1L
Menzura

Reagensi:

1. Etanol, 96 % - tni
2. Etanol, 80 % - tni
3. Folin – Ciocalteu reagens
4. Zasićena otopina natrijeva karbonata
5. Standard galne kiseline

Priprema uzorka:

5 g uzorka izvaganog s točnošću ± 0,1 g homogenizira se s 20 mL 80 %- tnog etanola u Erlenmeyerovoj tikvici sa šifrom volumena 100 mL. Homogena smjesa se ekstrahira uz povratno hladilo tijekom 10 minuta (10 minuta od trenutka kad ekstrakt provri). Dobiveni

ekstrakt se profiltrira kroz filter papir u odmjernu tikvicu od 50 mL. Zaostali talog s filer papirom ponovno se ekstrahira s 20 ml 80 %- tnog etanola u Erlenmeyerovoj tikvici i ekstrahira uz povratno hladilo još 10 minuta. Dobiveni ekstrakti se spoje u tikvicu od 50 mL i nadopune do oznake s 80 %- tnim etanolom (Coseteng i Lee, 1987).

Postupak određivanja

U odmjernu tikvicu od 25 mL otpipetira se redom 0,125 mL ekstrakta, 7,5 mL destilirane vode i 0,625 mL F.C. reagensa. Sve skupa se promiješa. Pripremljenoj smjesi doda se 1,875 mL zasićene otopine natrijeva karbonata, a potom se uzorci termostatiraju 20 minuta pri T= 50 ^{o}C. Nakon toga mjeri se apsorbancija (optička gustoća otopine) pri valnoj duljini 765 nm. Na isti se način priprema i slijepa proba, ali se umjesto ekstrakta uzima 80 %- tni etanol (Ough i Amerine, 1998).

Izračunavanje

Za pripremu baždarnog pravca odvaže se 0,5 g galne kiseline. Odvaga se otopi u 10 mL 96 %- tnog etanola u odmjernoj tikvici od 100 mL i nadopuni destiliranom vodom do oznake.

Od te otopine galne kiseline rade se razrjeđenja u odmjernim tikvicama od 100 mL tako da se otpipetira redom 0, 1, 2, 3 5 i 10 mL alikvota standardne otopine galne kiseline u svaku tikvicu i potom se nadopunjavaju do oznake destiliranom vodom. Koncentracije galne kiseline u tim tikvicama iznose 0, 50, 100, 150, 250 i 500 mg/L.

Iz svake tikvice se otpipetira 0,25 mL otopine standarda u odmjerne tikvice od 25 mL. Potom se dodaje redom 15 mL destilirane vode, 1,25 mL F.C. reagensa i 3,75 mL zasićene otopine natrijeva karbonata. Sve se izmiješa i uzorci se potom termostatiraju 20 minuta pri T= 50 ^{o}C. Nakon toga mjeri se apsorbancija (optička gustoća otopine) pri valnoj duljini 765 nm. Na isti se način priprema i slijepa proba, ali se umjesto ekstrakta uzima 80 %- tni etanol (Ough i Amerine, 1998).

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancija nacrta se baždarni pravac pomoću programa Microsoft Excel pri čemu su na apscisi nanesene koncentracije galne kiseline (mg/L), a na ordinati izmjerene vrijednosti apsorbancije pri 765nm. Koncentracija ukupnih fenola izračuna se prema dobivenoj jednadžbi pravca.

Na temelju dobivenih rezultata, jednadžba (2) pravca glasi:

$$Y = 0{,}001 \times X \quad (2)$$

gdje je u (2) :

Y – apsorbancija pri 765 nm

X – koncentracija galne kiseline (mg/L)

3.2.4. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta

Princip određivanja:

Ova metoda razvijena je za određivanje antioksidacijske aktivnosti spojeva u hrani uporabom stabilnog 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala. DPPH radikal zbog nesparenog elektrona postiže apsorpcijski maksimum u vidljivom dijelu spektra (517 nm) i ljubičaste je boje. Promjena ljubičaste boje u žutu posljedica je sparivanja nesparenog elektrona DPPH radikala s vodikom antioksidansa, stvarajući reducirani oblik DPPH-H. Promjena boje je u stehiometrijskom odnosu s brojem sparenih elektrona (Prior i sur., 2005; Braca i sur., 2001)

Aparatura i pribor: Spektrofotometar (UV UNICAM HELIOS β)

Staklene kivete

Analitička vaga Kern ABT 220-4M

Stakleni lijevak

Pipeta volumena 25 mL i 100 mL

Mikropipeta volumena 1000 µl i 500 µl

Odmjerna tikvica volumena 100 mL

Laboratorijske čaše volumena 100 mL i 250 mL

Epruvete

Stalak za epruvete

Plastična lađica za vaganje

Laboratorijska žličica

Reagensi:

1. 0,5 mM otopina DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal)
2. 100 % -tni metanol
3. Mravlja kiselina

Priprema reagensa:

0,01 g 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala (DPPH) odvaže se u plastičnoj lađici za vaganje te kvantitativno prenese i otopi u 100 %-tnom metanolu te nadopuni do oznake 100 %-tnim metanolom u odmjernoj tikvici od 100 mL. Svaki dan se mora pripremiti svježa otopina.

Priprema ekstrakta

Od 2 g uzorka pripremi se 10 ml ekstrakta. Ekstrakcija se provodi u ultrazvučnoj kupelji koja je prethodno zagrijana na 50 °C. Otapalo za ekstrakciju je 1 % otopina mravlje kiseline u 80 % metanolu. Dobiveni ekstrakt se centrifugira 10 minuta pri 5500 okretaja/min, dekantira i nadopuni do 10 ml otapalom za ekstrakciju. Dobiveni ekstrakt se skladišti do analize na -18 °C u atmosferi inertnog plina.

Postupak određivanja

U epruvetu se otpipetira 1 mL ekstrakata, 1 mL metanola te 0,5 mL 0,5 mM otopine DPPH. Epruvete sa sadržajem stoje 20 minuta u mraku pri sobnoj temperaturi nakon čega se mjeri apsorbancija pri 517 nm, uz metanol kao slijepu probu.

Za svaki pojedini uzorak napravljene su dvije paralele.

Izmjerene apsorbancije nisu prelazile vrijednost 1,0 pa ekstrakte uzoraka nije bilo potrebno razrjeđivati. Vrijednosti apsorbancije moraju biti u granicama od 0,1 do 0,9 koje su optimalne za raspon osjetljivosti spektrofotometra.

Izrada baždarnog pravca

Za pripremu baždarnog pravca pripremi se 100 mL 0,02 M otopine Troloxa (6-hidroksi-2,5,6,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) iz koje se pripreme razrijeđenja u koncentracijama 0, 25, 50, 100, 200 i 300 μM na način da se u odmjerne tikvice volumena 50 mL redom otpipetira 0; 6,25; 125; 250; 500 i 750 μL alikvot otopine Troloxa te do oznake nadopuni 100 %-tnim metanolom.

U epruvetu se otpipetira redom 200 μL odgovarajuće otopine Troloxa, 3,8 mL metanola i 1 mL 0,5 mM otopine DPPH. Sadržaj se promiješa i ostavi stajati 20 minuta u mraku na sobnoj temperaturi nakon čega se mjeri apsorbancija na 517 nm uz metanol kao slijepu probu.

Izračunavanje

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancije otopina Troloxa nacrta se baždarni pravac pomoću računala (program Microsoft Office Excel) s vrijednostima koncentracije Troloxa (μM) na apscisi i vrijednostima apsorbancije nanesenim na ordinati. Na temelju dobivenih rezultata, jednadžba (3) pravca glasi:

$$Y = - 0{,}00123814 \times X + 1{,}2031 \qquad (3)$$

$$R^2 = 0{,}9965$$

Iz pripadajuće jednadžbe pravca izračuna se antioksidacijski kapacitet (X) ekstrakta na temelju izmjerenih apsorbancija određenih DPPH metodom. Dobivena vrijednost preračuna se na 100 g uzorka uzevši u obzir odvagu uzorka i volumen ekstrakta.

gdje je:

Y = apsorbancija uzorka pri 517 nm

X = ekvivalent Troloxa (μmol/L)

1,2031 = odsječak pravca na osi Y

3.2.5. Senzorska svojstva

Princip određivanja:

Ocjenjivanjem senzorskih svojstava 10 je ispitivača skalom od 1 do 7 ocijenilo izgled, okus i opću prihvatljivost danih uzoraka. Ocjena 1 predstavljala je jako visoko nepoželjno svojstvo dok je opisna ocjena 7 bila jako visoko poželjno svojstvo (Aguayo i sur., 2010).

Tablica 5 Obrazac za ocjenjivanje senzorskih svojstava

Opisna ocjena	Jako visoko poželjno	Visoko poželjno	Osrednje poželjno	Neutralno	Osrednje nepoželjno	Visoko nepoželjno	Jako visoko nepoželjno
Izgled							
Okus							
Opća prihvatljivost							

4. Rezultati

- **Određivanje pH, topljive suhe tvari i ukupne kiselosti**

Tablica 6 Udio pH, topljive suhe tvari i ukupne kiselosti u pireu borovnice

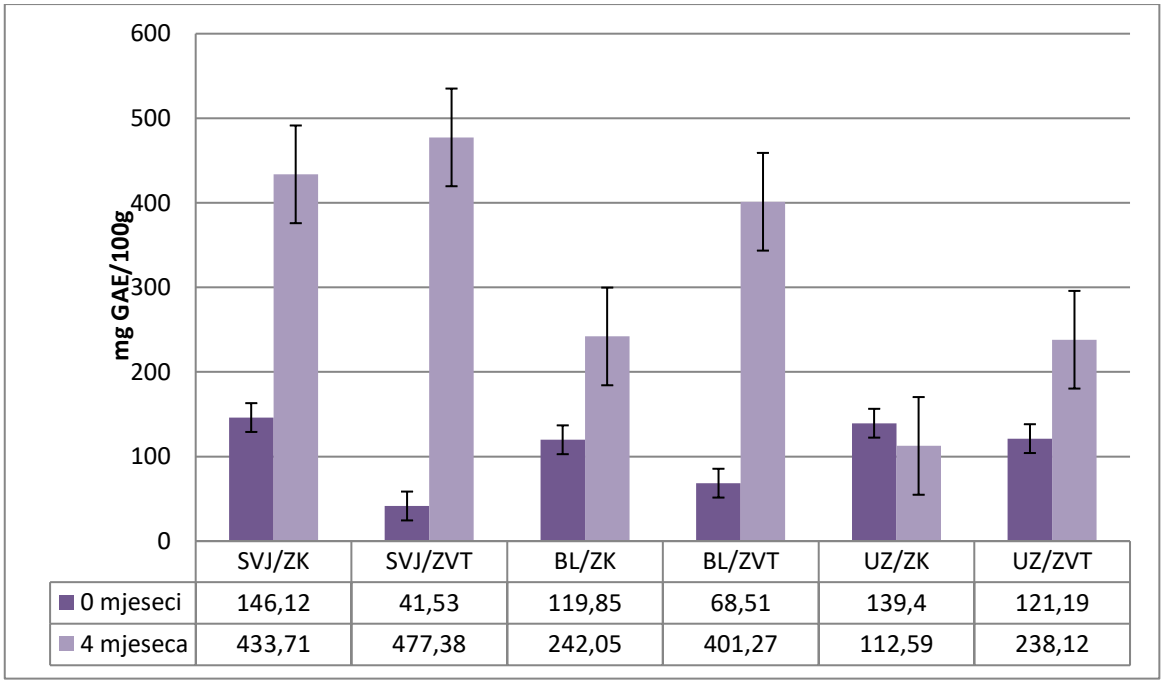
Uzorak	Zamrzavanje	Skladištenje	Suha tvar	pH	Ukupna kiselost (%)
Pire borovnica	komora	0	15,3±0,0	3,59	0,38±0,00
		4	15,4±0,2	3,51	0,38±0,02
	primjena visokog tlaka	0	16,1±0,2	3,62	0,30±0,04
		4	13,8±0,4	3,46	0,33±0,04
Blanširani pire borovnica (BL)	komora	0	15,2±0,1	3,61	0,41±0,00
		4	15,6±0,1	3,74	0,35±0,02
	primjena visokog tlaka	0	15,2±0,0	3,62	0,46±0,21
		4	16,5±0,5	3,6	0,35±0,02
Pire borovnice tretiran ultrazvukom (UZV)	komora	0	14,1±0,2	3,72	0,39±0,02
		4	16,4±0,1	3,71	0,38±0,02
	primjena visokog tlaka	0	13,4±0,0	3,38	0,38±0,02
		4	12,7±0,2	3,17	0,31±0,00

- **Određivanje boje**

Tablica 7 Parametri boje uzorka smrznutog pirea borovnice

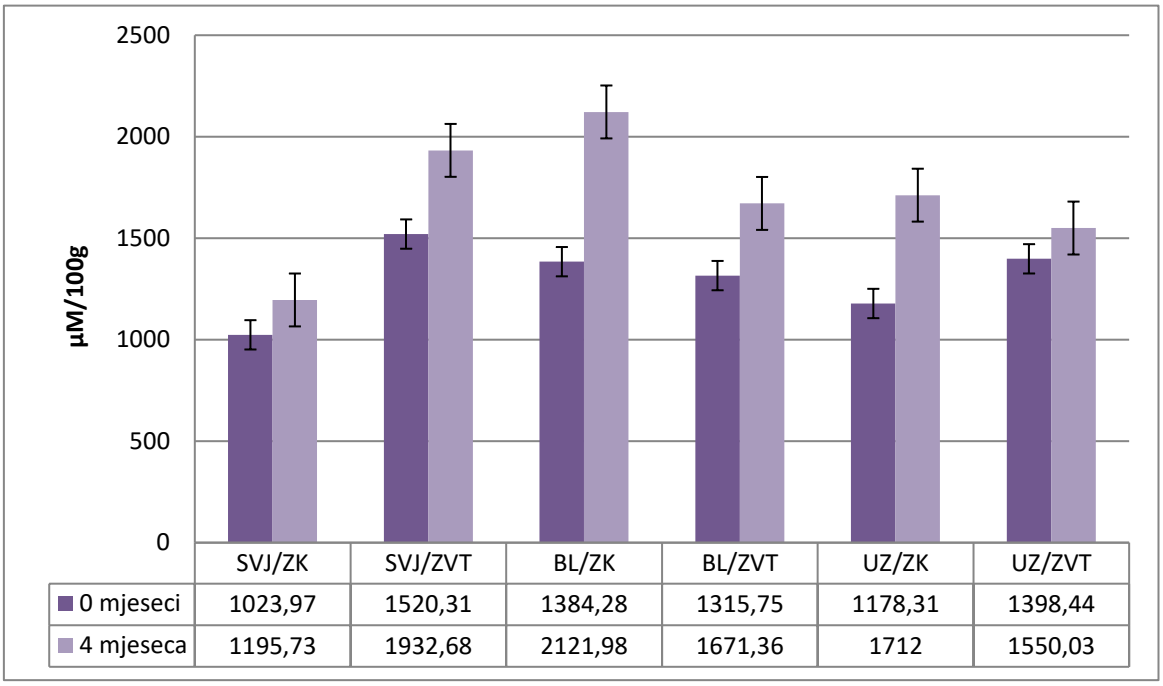
Uzorak	Zamrzavanje	Skladištenje	L*	a*	b*
Pire borovnica	komora	0	6,76±0,04	12,93±0,02	2,70±0,05
		4	7,73±0,07	7,44±0,03	0,90±0,12
	primjena visokog tlaka	0	9,42±0,01	13,53±0,08	3,33±0,11
		4	5,72±0,05	8,49±0,06	2,23±0,10
Blanširani pire borovnica (BL)	komora	0	7,73±0,03	7,83±0,02	0,46±0,06
		4	3,28±0,03	6,86±0,03	0,27±0,03
	primjena visokog tlaka	0	4,14±0,02	8,08±0,08	0,44±0,05
		4	3,95±0,07	6,96±0,08	0,44±0,09
Pire borovnice tretiran ultrazvukom (UZV)	komora	0	3,86±0,02	7,68±0,04	0,63±0,04
		4	3,75±0,11	7,42±0,02	0,84±0,04
	primjena visokog tlaka	0	8,61±0,07	11,57±0,13	2,65±0,03
		4	12,86±0,038	5,68±0,10	-0,78±0,08

- **Određivanje ukupnih fenola**



Slika 7 Prikaz ukupnih fenola u uzorcima prije i nakon skladištenja

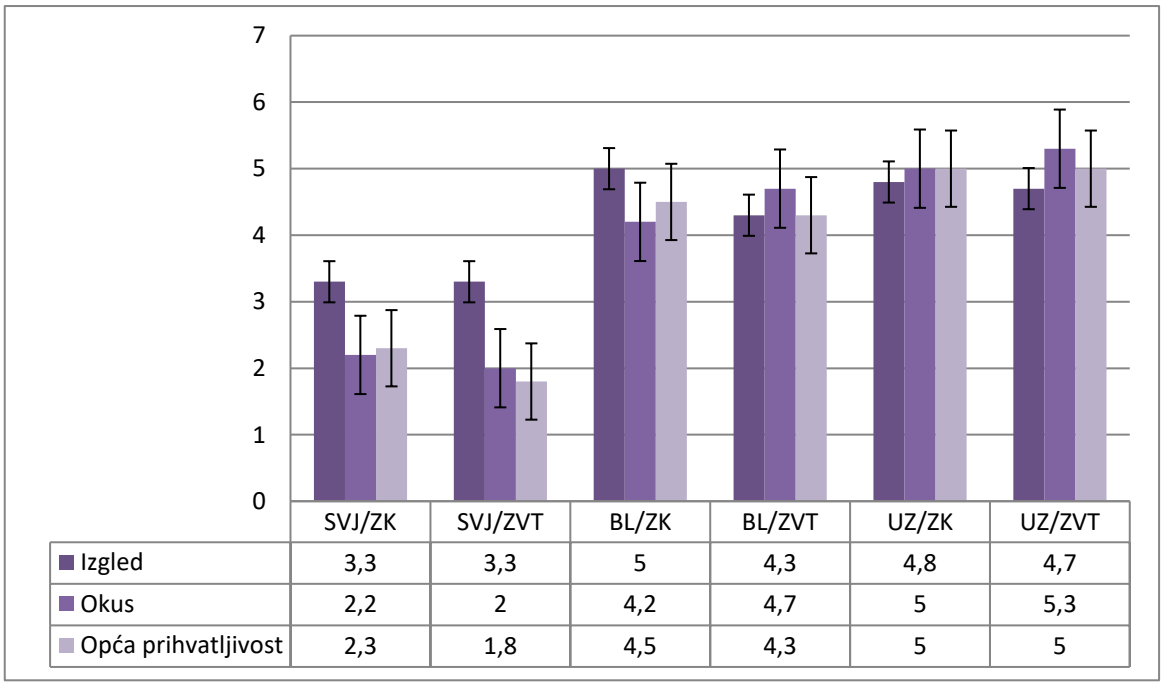
- **Određivanje antioksidacijskog kapaciteta**



	SVJ/ZK	SVJ/ZVT	BL/ZK	BL/ZVT	UZ/ZK	UZ/ZVT
0 mjeseci	1023,97	1520,31	1384,28	1315,75	1178,31	1398,44
4 mjeseca	1195,73	1932,68	2121,98	1671,36	1712	1550,03

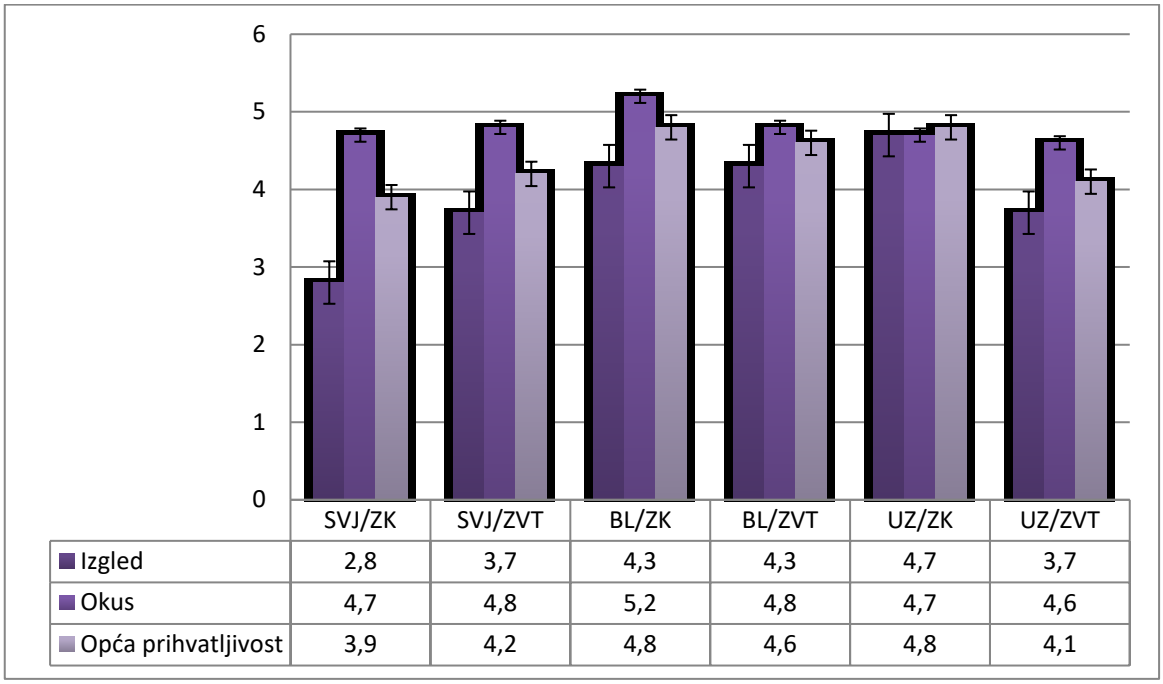
Slika 8 Antioksidacijski kapacitet prije i nakon skladištenja

- **Senzorska svojstva**



	SVJ/ZK	SVJ/ZVT	BL/ZK	BL/ZVT	UZ/ZK	UZ/ZVT
Izgled	3,3	3,3	5	4,3	4,8	4,7
Okus	2,2	2	4,2	4,7	5	5,3
Opća prihvatljivost	2,3	1,8	4,5	4,3	5	5

Slika 8 Ocjena senzorskih svojstava u uzorcima prije skladištenja



	SVJ/ZK	SVJ/ZVT	BL/ZK	BL/ZVT	UZ/ZK	UZ/ZVT
Izgled	2,8	3,7	4,3	4,3	4,7	3,7
Okus	4,7	4,8	5,2	4,8	4,7	4,6
Opća prihvatljivost	3,9	4,2	4,8	4,6	4,8	4,1

Slika 9 Ocjena senzorskih svojstava u uzorcima nakon skladištenja

5. Rasprava

- **Određivanje pH, topljive suhe tvari i ukupne kiselosti**

Utjecaj predtretmana i načina zamrzavanja na suhu tvar različit je ovisno o predtretmanu i načinu zamrzavanja pri čemu nije uočena jasna pravilnost promjena. Primjerice, predtretman UZ utjecao je na smanjenje suhe tvari dok blanširanjem nije došlo do promjena. U uzorku UZV/ZVT izmjerena je najmanja suha tvar (12,7 %) i prije i poslije skladištenja. Tijekom skladištenja u uzorcima ZVT se većinom minimalno smanjila dok se u pireima ZK povećala i to najviše kod uzorka UZV/ZK sa 14,1 ± 0,2 na 16,4 ± 0,1.

Utjecaj predtretmana i načina zamrzavanja na pH bio je neznatan. To je u skladu s podacima ranijih istraživanja npr. Kuldiloke (2002) je u svom radu proučavao utjecaj ultrazvuka, temperature i visokog tlaka na parametre kvalitete voća i povrća te zaključio kako nije bilo razlike u pH između različitih tretmana. Tijekom skladištenja od četiri mjeseca pH vrijednost je većinom ostala približno podjednaka kao i prije skladištenja s blago izraženim trendom smanjenja (iznimke su SVJ/ZVT i BL/ZK).

Ukupna kiselost se gotovo nije promijenila uslijed predtretmana i tijekom skladištenja. Najmanje su promjene vidljive kod pirea koji nije imao pred-tretman.

Istražujući utjecaj temperature zamrzavanja na kvalitetu borovnica, Jo i sur. (2014) su spoznali kako nema značajnijih promjena suhe tvari i ukupne kiselosti uspoređujući ih sa svježim bobičastim voćem.

- **Određivanje boje**

U pireu UZV/ZVT su izmjereni parametri boje L*, a* i b* koji se najmanje razlikuju od početnog uzorka. Nakon skladištenja do najmanjih promjena dolazi u pireu bez predtretmana zamrznutom u komori i uz visoki tlak što nam može dati naslutiti kako zamrzavanje visokim tlakom stabilizirajuće djeluje na boju pirea.

Patras i sur. (2009) su ustanovili svojim istraživanjem kako je promjena boje bila manja za piree tretrane visokim tlakom, ali razlike su bile neznatno veće za termički tretirane uzorke.

Stoga, zamrzavanje visokim tlakom može biti učinkovit način da se očuva boja proizvoda.

- **Određivanje ukupnih fenola**

Svi tretmani rezultirali su smanjenjem udjela ukupnih fenola u pireu borovnice. Najmanje smanjenje određeno je za uzorak UZV/ZK, a najveće za SVJ/ZVT. Tijekom skladištenja ukupna količina fenola povećala se u svim uzorcima, osim u uzorku UZV/ZK u kojem je uočen blagi pad ukupnih fenola sa 139,40 ± 6,19 na 112,59 ± 34,83 mg GAE/100 g. Najznačajniji rast bio je u upravo u uzorku SVJ/ZVT gdje su ukupni fenoli porasli više od 9 puta tj. sa 41,53 na 477,38 mg GAE/100 g. Najsličnija toj vrijednost određena je u uzorku SVJ/ZK (433,71 mg GAE/100 g).

Brambilla i sur. (2011) ističu kako su u blanširanom zamrznutom pireu borovnice dobro očuvani fenolni bioaktivni spojevi, a Torres-Ossandón i sur. (2015) navode da dolazi do porasta fenolnih spojeva i antioksidacijskog kapaciteta raznog voća tretiranog visokim tlakom. U našem istraživanju to povećanje je uslijedilo tek nakon skladištenja, ali ne samo za uzorke zamrznute uz primjenu visokog tlaka.

- **Određivanje antioksidacijskog kapaciteta**

Vrijednosti za antioksidacijski kapacitet povećale su se u svim uzorcima neovisno o predtretmanu i načinu zamrzavanja, a najveća vrijednost određena je u uzorku SVJ/ZVT. Tijekom skladištenja uočeno je kako u svim uzorcima dolazi do daljnjeg porasta antioksidacijskog kapaciteta. Uspoređujuću sa ostalim uzorcima, BL/ZK se ističe značajnim porastom s 1384,28 na 2121,98 μM/100 g.

Prema istraživanjima koje su proveli Patras i sur. (2009) antioksidacijski kapacitet tretiranih pirea visokim tlakom dao je rezultate značajno više u odnosnu na termički obrađene uzorke. Također, u svim skladištenim uzrocima borovnica porastao je ukupni antioksidacijski kapacitet (Reque i sur., 2014).

- **Određivanje senzorskih svojstava**

Primjenjeni postupci predtretmana pozitivno su utjecali na senzorska svojstva pirea borovnice. Uzorci SVJ/ZK i SVJ/ZVT prije skladištenja su znatno lošije ocjenjeni uspoređujući ih s ostalim uzorcima. Interesantno je primjetiti da je i skladištenje uglavnom pozitivno utjecalo na senzorska svojstva. Tako su nakon skladištenja spomenuta dva uzorka bitno bolje ocjenjena nego prije skladištenja, iako lošije od ostalih. Nakon skladištenja najbolje su ocjenjeni uzorci zamrzavani u komori i to BL/ZK za okus, UZ/ZK za izgled te opću prihvatljivost.

Pozitivan utjecaj predtretmana može se objasniti na sljedeći način. Formiranje leda unutar stanice može uzrokovati oštećenja na osjetljivim organelima i membranskim strukturama u stanici. Kao jedna od posljedica je nekontrolirano enzimsko djelovanje koje uzrokuje razne efekte uključujući i promjene izgleda, okusa i opće prihvatljivosti proizvoda. Djelovanje na takve enzime postiže se pomoću pred-tretmana blanširanja čime se enzimi denaturiraju, a time posljedično gube svoju katalitičku aktivnost (Brown, 1977; Mohr, 1971). Istu ulogu ima i ultrazvučni tretman (Piyasena i sur., 2003).

6. Zaključak

1. Najmanje promjene topljive suhe tvari, pH vrijednosti i ukupne kiselosti prije skladištenja u odnosu na netreretirani pire zamrznut u komori (početni uzorak) određene su u uzorku zamrzavanom u komori s pred-tretmanom blanširanja. Dok su nakon skladištenja pri -18 ^{o}C tijekom 4 mjeseca upravo u netreretiranom pireu zamrznutom u komori određene najmanje promjene.
2. Parametri boje koji se prije skladištenja najmanje razlikuju od početnog uzorka izmjereni su u pireu zamrzavanom izlaganjem visokim tlakom bez predtretmana i s pred-tretmanom ultrazvukom. Nakon skladištenja do najmanjih promjena dolazi u pireu bez predtretmana zamrznutom u komori i uz visoki tlak što govori u prilog tome da zamrzavanje visokim tlakom ne utječe negativno na boju pirea.
3. Pred-tretman ultrazvukom najmanje utječe na promjenu vrijednosti ukupnih fenola u odnosu na početni uzorak, a najveće vrijednosti nakon skladištenja određene su u uzorku bez pred-tretmana koji je zamrznut izlaganjem visokim tlakom. Općenito, tijekom skladištenja u svim uzorcima dolazi do višestrukog povećanja udjela ukupnih fenola.
4. Vrijednosti za antioksidacijski kapacitet povećale su se u svim uzorcima tijekom skladištenja, a najveći je određen u uzroku zamrzavanom u komori s pred-tretmanom blanširanja.
5. Senzorskim ocjenjivanjem prije skladišenja najbolje su ocjenjeni uzorci s pred-tretmanom ultrazvukom i zamrzavani uz visoki tlak, a nakon skladištenja zamrzavani u komori i to s pred-tretmanom blanširanja za okus te pred-tretmanom ultrazvukom za izgled.
6. Nema jedinstvenog zaključka koji je pred-tretman odnosno način zamrzavanja bio najučinkovitiji jer za svaki od njih su određeni i pozitivni i negativni utjecaji na ispitivane parametre.

7. Literatura

1. Arthey, D., (1995) Freezing of vegetables and fruits. In: Mallett, C.P. (Ed.), Frozen Food Technology. Blackie Academic and Professional, London, pp. 237–269.

2. Aguayo, E., Requejo-Jackman, C., Stanley, R., Woolf, A. (2010) Effects of calcium ascorbate treatments and storage atmosphere on antioxidant activity and quality of fresh-cut apple slices. *Post. Biol Tehnol.* 57, 52-60.

3. Belitz, H. – D., Grosch, W., Schieberle, P. (2004) Food Chemistry, 3rd revised edition, Springer, New York. doi: 10.1007/978-3-662-07279-0.

4. Borges, G., Degeneve, A., Mullen, W., Crozier, A. (2009) Identification of Flavonoid and Phenolic Antioxidants in Black Currants, Blueberries, Raspberries, Red Currants, and Cranberries. Divison of Ecology and Environmental Biology, Faculty of Biomedical and Life Sciences, University of Glasgow, United Kingdom *58* (7), str 3901–3909.

5. Brambilla, A., Maffib, D., Rizzoloa A. (2011) Study of the influence of berry-blanching on syneresis in blueberry purées. *P. Food Sci.* 1 (2011) 1502 – 1508.

6. Dragović-Uzelac, V., Savić, Z., Brala, A., Levaj, B., Bursać-Kovačević, D., Biško, A. (2010) Evaluation of phenolic content and antioxidant capacity of blueberry cultivars (Vaccinium corymbosum L.) grown in the northwest Croatia. *Faculty of Food Technology and Biotechnology*, 48 (2010) , 2; 214-221.

7. Dujmović Purgar, D., Duralija, B., Voća, S., Vokurka, A., Ercisli, S. (2012) A comparison of fruit chemical characteristics of two wild grown Rubus species from different locations of Croatia. *Mol.*, 9; 10390-10398

8. Ebert, G. (2008). Uzgoj borovnica i brusnica. Gaudeamus, Požega.

9. Eliseu, R., Poerner, N., Rockenbach, I. I., Gonzaga, L. V., Ribas Mendes, C., Fett, R. (2011) Phenolic compounds and antioxidant activity of blueberry cultivars grown in Brazil. *Ciênc. Tecnol. Aliment*., 31(4) 911-917.

10. FAOSTAT (2016). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistic division; Pristupljeno 16.06.2016.

11. Fennema, O. R. (1973) Nature of freezing process. In O. R. Fennema, W. D. Powrie, & E. H. Marth (Eds.), Low temperature preservation of foods and living matter (pp. 151–222). New York: Marcel Dekker.

12. Guerrero, A. Lopez-Malo, S.M. Alzamora (2001) Effect of ultrasound on the survival od Saccharomyces cerevisiae: influence of temperature, pH and amplitude; *Innov. Food. Sci. Emerg.* , 2, pp 31-39.

13. Jo, H.J., Kim, J.E., Yu, M.J., Lee, W.H., Song, K.B., Kim, H.Y., Hwang, I.G., Yoo, S.M., Han, G.J., Park, J.T. (2014) Effect of freezing temperature on blueberry quality. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*., 43 (12): 1906-1912.

14. Kentish, S., Ashokkumar, M. (2011) The physical and chemical effects of ultrasound; Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing, Springer, London, str. 1-12.

15. Kuldiloke, J. (2002). Effect of ultrasound, temperature and pressure treatments on enzyme activity and quality indicators of fruit and vegetable juices. Doctoral dissertation, Technical University of Berlin, 2002.

16. Li, D., Meng, X., Li, B. (2016) Profiling of anthocyanins from blueberries produced in China using HPLC-DAD-MS and exploratory analysis by principal component analysis. *J. Food. Compost. Anal,* str. 2-5.

17. Lovrić, T. (2003.): Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambeno g inženjerstva. Hinus, Zagreb

18. Lu, T., Finkel, T. (2008) Free radicals and senescence. Experimental Cell Research. *Exp Cell Res.*, 10; 314(9): 1918-22.

19. Lund, B.M., Baird Parker, T. C., Gould, G.W. (2000) The Microbiological Safety and Quality of Food, vol. I. Aspen Publishers, Gaithersburg, MD, str. 122–145. *Iy radaDouglas L. Archer. Freezing: an underutilized food safety technology? Int. J. Food. Microbiol. 90.*

20. Ough, C.S., Amarine, M.A. (1988) Methods for analysis of musts and wines, 2.izd., John Wiley & sons, New York.

21. Pandey K. B. and Rizvi S. I. (2009) "Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, " Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2, 270-278

22. Paprstein, F., and Sedlak, J. (2006) Micropropagation of highbush blueberry cultivars. Research and Breeding Institute of Pomology Holovousy Ltd., 508 01 Horice, Czech Republic

23. Patras, A., Brunton, N. P., Da Pieve, S., & Butler, F. (2009). Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purees. Innovative *Innov. Food. Sc. Emerg*., 10, 308-313.

24. Piyasena, P., Mohareb, E., McKellar, R. C. (2003) Inactivation of microbes using ultrasound; *Int. J. Food. Microbiol*., 87 (3), 99 207-216

25. Prior, R. L., Cao, G., Martin, A., et al. (1998) Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium species*. *J Agric Food Chem*. 46(7):2686–2693.

26. Reuben, C. (1998.) Antioksidansi - Cjeloviti vodič. IZVORI, Zagreb.

27. Requea, P. M., Steffensa, R. S., Jablonskib, A., Floresa, S. H., de O. Riosa, A., de Jonga, E. (2014) Cold storage of blueberry (Vaccinium spp.) fruits and juice: Anthocyanin stability and antioxidant activity. *J. Food. Compost. Anal*., doi: 10.1016/j.jfca.2013.11.007

28. Riihinen, K., Jaakola, L., Kärenlampi, S., Hohtola, A. (2008) Organ-specific distribution of phenolic compounds in bilberry (Vaccinium myrtillus) and 'northblue' blueberry (Vaccinium corymbosum x V. angustifolium), *Food Chem* 110(1): 156- 160

29. Torres-Ossandón, M.J., López, J., Vega-Gálvez, A., Galotto, M.J., Perez-Won, M. and Di Scala, K. (2015) Impact of High Hydrostatic Pressure on Physicochemical Characteristics, Nutritional Content and Functional Properties of Cape Gooseberry Pulp (Physalis Peruviana L.). *J. Food. Process. Preserv.* doi: 10.1111/jfpp.12535

30. USDA (2016.) United States Department of Agriculture – National Resources Conservation Service, http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2166 : Pristupljeno 19.06.2016.

31. Wang, B. C., He, R., Li, Z. M. (2009) The Stability and Antioxidant Activity of Anthocyanins from Blueberry: Key Laboratory of Biorheological Science and Technology, Bioengineering College, Chongqing University

32. Wu, X. et al. (2004) Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the united states. *J. Agr. Food. Chem*., v. 52, 4026-4037.

33. Yang, C. S. et al. (2001) Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annu. Rev. Nutr*., 21,381-406.