

Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka na održivost i fizikalna svojstva smoothieja povećanog stupnja disperznosti

Kaurinović, Jelena

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

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:159:234998>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-28**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno - biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Jelena Kaurinović

7586/PT

**UTJECAJ VISOKOG HIDROSTATSKOG TLAKA NA
ODRŽIVOST I FIZIKALNA SVOJSTVA SMOOTHIEJA
POVEĆANOG STUPNJA DISPERZNOSTI**

ZAVRŠNI RAD

Predmet/Naziv znanstveno-istraživačkog ili stručnog projekta: Fenomeni prijelaza /
Rad je izrađen u sklopu projekta HRZZ (Hrvatska zaklada za znanost) pod nazivom „Primjena visokog hidrostatskog tlaka u proizvodnji funkcionalnih sokova na bazi voća i povrća“ (IP 2016 – 06 – 4006) čiji je voditelj Prof.dr.sc. Damir Ježek)

Mentor: Izv. prof. dr. sc. Tomislav Bosiljkov

Zagreb, 2020.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno - biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za procesno inženjerstvo
Laboratorij za tehnološke operacije

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

**Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka na održivost i fizikalna svojstva smoothieja
povećanog stupnja disperznosti**

Jelena Kaurinović, 0058212717

Sažetak: Cilj ovog završnog rada bio je istražiti utjecaj visokog hidrostatskog tlaka na promjenu fizikalnih svojstava (apsorbancija, gustoća, prividna viskoznost, stabilnost i raspodjela veličine čestica) smoothieja s dodatkom različite vrste ulja (konoplja, lan) i različitim vremenom (stupnjem) usitnjavanja indijskih oraščića (15 i 45 s) pri tlakovima od 300 i 450 MPa i vremenu obrade od 9 i 15 minuta. Smoothie dobiven dodatkom ulja konoplje pokazuje veću stabilnost (ISS) od maksimalnih 260 sati. Stabilnost karakterizira raspodjela veličine čestica od 9 - 2511 μm i optimalni procesni parametri od 300 MPa i 9 minuta obrade pri oba stupnja usitnjavanja. Selektivna statistička značajnost (ANOVA) utjecaja procesnih parametara prisutna je kod svih promatranih fizikalnih veličina.

Ključne riječi: emulzije, fizikalna svojstva, smoothie, stabilnost, visoki hidrostatski tlak

Rad sadrži: 35 stranica, 25 slika, 40 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Izv. prof. dr. sc. Tomislav Bosiljkov

Rad predan: 1. rujna, 2020.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Undergraduate studies Food Technology

Department of Process Engineering
Laboratory for Unit Operations

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

Influence of high hydrostatic pressure on sustainability and physical properties of smoothies of increased degree of dispersion

Jelena Kaurinović, 0058212717

Abstract: The main goal of this research was to investigate the influence of high hydrostatic pressure on changes of physical properties (absorbance, density, dynamic viscosity, stability and particle size distribution) of smoothies with the addition of different types of oil (hemp, flax) and different grinding time of cashews (15 and 45 s) at pressures of 300 and 450 MPa and processing times of 9 and 15 minutes. Smoothie obtained by the addition of hemp oil shows a higher stability (ISS) with a maximum value of 260 hours. Stability is characterized by a particle size distribution from 9 to 2511 μm and optimal process parameters of 300 MPa and 9 minutes of processing at both grinding times. Selective statistical significance (ANOVA) of the influence of process parameters is present in all observed physical quantities.

Key words: emulsions, high hydrostatic pressure, physical properties, smoothie, stability

Thesis contains: 35 pages, 25 figures, 40 references

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: PhD Tomislav Bosiljkov, Associate professor

Defence date: September 1st 2020.

SADRŽAJ:

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. VISOKI HIDROSTATSKI TLAK.....	2
2.1.1. Princip obrade visokim hidrostatskim tlakom	3
2.1.2. Postrojenje za tretiranje visokim hidrostatskim tlakom	3
2.1.3. Utjecaj visokih tlakova na mikroorganizme i enzime	5
2.1.4. Mogućnosti primjene visokog hidrostatskog tlaka u prehrambenoj industriji	6
2.2. SMOOTHIE	7
2.3. EMULZIJE	8
2.4. MLJEVENJE	10
2.5. RASPODJELA VELIČINE ČESTICA.....	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO	12
3.1. MATERIJALI.....	12
3.2. METODE RADA.....	12
3.2.1. Priprema sojinog mlijeka	12
3.2.2. Priprema soka od jabuke	12
3.2.3. Usitnjavanje indijskih oraščića.....	12
3.2.4. Predobrada ultrazvukom.....	13
3.2.5. Obrada visokim hidrostatskim tlakom	13
3.2.6. Mjerenje apsorbancije	14
3.2.7. Mjerenje gustoće.....	15
3.2.8. Određivanje prividne viskoznosti	15
3.2.9. Određivanje raspodjele veličine čestica	16
3.2.10. Određivanje indeksa stabilnosti smoothieja (ISS).....	17
3.2.11. Statistička obrada podataka	17
4. REZULTATI I RASPRAVA	18

5. ZAKLJUČCI	31
6. POPIS LITERATURE.....	32

1. UVOD

Potrošači su u posljednje vrijeme sve više orijentirani prema hrani koja je po svojim organoleptičkim značajkama što sličnija neprerađenoj sirovoj hrani. Iz tog razloga nametnula se potreba za razvitkom novih blažih tehnika obrade namirnica koje bi zamijenile tradicionalne procese prehrambene industrije i dale proizvode vrhunske kvalitete. Jedna od takvih metoda prerade namirnica je metoda obrade visokim hidrostatskim tlakom.

Postupkom obrade prehrambenih proizvoda visokim hidrostatskim tlakom može se znatno uštediti energija, smanjiti vrijeme trajanja procesa proizvodnje, ostvariti znatno blaži uvjeti termičke obrade, osigurati mikrobiološku stabilnost, produžiti rok trajanja te dobiti proizvod boljih organoleptičkih i senzorskih svojstava kao i veće nutritivne vrijednosti.

Uporaba visokog hidrostatskog tlaka bilježi porast u proizvodnji voćnih sokova i smoothieja pri čemu nije potrebno dodavati konzervanse kako bi se očuvala trajnost. Smoothie je napitak kremaste teksture koji se priprema od voća, voćnog soka, vode, mlijeka ili mliječnih proizvoda. Bogate je nutritivne vrijednosti i sadrži samo prirodne sastojke.

U ovom završnom radu proučavao se utjecaj visokog hidrostatskog tlaka, vremena obrade visokim hidrostatskim tlakom, utjecaj stupnja (vremena) usitnjavanja čestica indijskog oraščića izraženog preko vremena usitnjavanja i vrste dodanog ulja (konoplja ili lan) na fizikalna svojstva smoothieja (stabilnost, apsorbanciju, intervalnu apsorbanciju, prividnu viskoznost, gustoću i raspodjelu veličine čestica, medijan) kako bi se odredili optimalni uvjeti obrade smoothieja visokim hidrostatskim tlakom te utjecaj vrste ulja koje karakteriziraju različita fizikalna svojstva i raspodjela veličine globula ulja s ciljem poboljšanja stabilnosti (postojanost disperznih faza u disperznom sredstvu) složenog sustava smoothieja kao proizvoda pogodnog za tržište i konzumaciju. Za pripremu smoothieja koristili su se sok od jabuke, sojino mlijeko, mljeveni indijski oraščić te ulje lana i konoplje.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. VISOKI HIDROSTATSKI TLAK

Visoki hidrostatski tlak (High hydrostatic pressure – HHP, High pressure processing – HPP) je netoplinska metoda obrade tekuće ili čvrste hrane, s ambalažom ili bez, pri vrijednostima tlaka u rasponu od 100 do 1200 MPa (Karlović i sur., 2019). U industrijskim postrojenjima vrijednosti tlaka obično ne prelaze 600 MPa (Keenan i sur., 2011). Temperatura pri kojoj se namirnice podvrgavaju tlaku može se kretati od ispod 0°C do iznad 100 °C. Pri takvim uvjetima namirnica može biti izložena djelovanju tlaka od jednu minutu pa sve do 30 minuta (Karlović i sur., 2019). Obično je vrijeme obrade radi ekonomičnosti procesa ograničeno na 20 minuta (Lovrić, 2003).

Začeci obrade visokim hidrostatskim tlakom kreću iz Japana, a nakon toga tehnika se intenzivno počela širiti u SAD i Europu. Jedna je od rijetkih novih metoda procesiranja hrane koja je prihvaćena i primjenjuje se komercijalno u prehrambenoj industriji. Narezana kuhana šunka proizvođača Espuna i sok od naranče UltiFruit proizvođača Pernod Ricard Company primjeri su proizvoda u čijoj je proizvodnji korišten visok hidrostatski tlak (Jeličić i sur., 2012).

Neke od prednosti obrade hrane visokim hidrostatskim tlakom u odnosu na konvencionalne metode su: kratko vrijeme obrade, uništavanje vegetativnih oblika bakterija, očuvanje organoleptičkih svojstava te nutrijenata, moguća promjena teksture, kombinacijom s hlađenjem dolazi do snižavanja temperature kristalizacije, dobra prihvaćenost od strane potrošača. Osim toga, obrada se odvija pri nižim temperaturama što uzrokuje značajne uštede na energiji. Do ekonomske uštede dolazi zbog izostanka toplinske obrade koja dovodi do gubitka vode, tj. smanjenja mase i volumena materijala. Također u samom procesu prerade ne dolazi do potrošnje vodene pare što pojeftinjuje proces, a s obzirom da se tehnološka voda korištena kao tlačni medij u procesu ponovo iskorištava, nema nastanka otpadnih voda, što je značajni ekonomski i ekološki učinak. Stoga se visoki hidrostatski tlak smatra „zero-waste“, odnosno tehnologija bez otpada. Visok hidrostatski tlak omogućuje stvaranje stabilnih emulzija i otvara prostor za velike mogućnosti razvijanja potpuno novih prehrambenih proizvoda (Lelas, 2006; Bosiljkov i sur., 2010).

Visoka cijena postrojenja, kao i ograničene mogućnosti pakiranja te mogućnost preživljavanja pojedinih mikroorganizama (spore) neki su od limitirajućih faktora u procesu obrade hrane visokim hidrostatskim tlakom (Lelas, 2006).

2.1.1. Princip obrade visokim hidrostatskim tlakom

Ponašanje namirnica pod utjecajem visokog hidrostatskog tlaka objašnjavaju dva principa, a to su Le Chatelierovo načelo i princip izostatskog tlaka (Elamin i sur., 2015).

Le Chatelierovo načelo nalaže da ako sustavu promijenimo neku intenzivnu veličinu, on će nastojati umanjiti tu promjenu. Pošto svaki sustav teži ravnoteži, pod utjecajem visokog tlaka favoriziraju se reakcije koje imaju poveznicu sa smanjenjem volumena kao što su promjene faze, promjene konformacije molekula te pojedine kemijske reakcije. Sve ostale reakcije su inhibirane. Zbog toga će se volumen sustava primjenom visokih tlakova smanjiti. Primjerice, volumen vode se smanjuje do 15 % (Karlović i sur., 2019). Smanjenjem volumena materijala podvrgnutog tlačenju dolazi do promjene udaljenosti između molekula, odnosno do promjena interakcija u molekuli ovisnih o udaljenosti zbog čega dolazi do promjena na nekovalentnim vezama (Martinez – Monteagudo i Saldana, 2014). Ovisno o intenzitetu primijenjenog tlaka, dolazi do stabilizacije vodikovih veza i pucanja ionskih veza, dok su pod najvećim utjecajem van der Waalsove sile. Suprotno tome, visoki hidrostatski tlak nema utjecaja na kovalentne veze što se smatra njegovim najvažnijim svojstvom (Karlović i sur., 2019).

Izostatskim tlakom smatra se pojava pri kojoj se tlak ravnomjerno raspoređuje u svim smjerovima, neovisno o veličini, obliku i sastavu hrane koja je tretirana. Upravo ta pojava omogućuje čvrstim namirnicama tretiranima visokim tlakom zadržati izvorni oblik što nije slučaj pri obradi hrane konvencionalnim toplinskim metodama gdje često dolazi do smanjena veličine zbog utjecaja topline (Knorr, 1999). Prilikom izostatskog tlačenja dolazi do procesa adijabatskog zagrijavanja namirnica pri čemu povišenje temperature namirnice ovisi o njevoj vrsti. U pravilu se temperatura povisi za 3 – 9 °C za svakih 100 MPa (Patterson i sur., 2007). Temperatura proizvoda se nakon dekompresije snizuje do početne, ako tijekom procesa nije došlo do izmjene topline kroz stijenkiju uređaja. Kompresija također može utjecati i na pH vrijednosti. U slučaju da prilikom procesa dođe do sniženja pH, većina mikroorganizama postaje osjetljivija na djelovanje visokog tlaka, što uz samo povišenje temperature dovodi do povećanja učinkovitosti procesa (Lovrić, 2003).

2.1.2. Postrojenje za tretiranje visokim hidrostatskim tlakom

Osnovni dijelovi uređaja za tretiranje visokim tlakom su: tlačna komora, mehanizam za zatvaranje komore, mehanizam za brtvljenje komore dok je pod tlakom, pumpa za generiranje visokog tlaka, medij za prijenos tlaka, sustav za kontrolu i praćenje tlaka i temperature (da

Cruz i sur., 2010). Najvažniji dio uređaja je tlačna komora cilindričnog oblika izrađena od legiranog čelika koji može izdržati velika naprezanja. Maksimalni radni tlak određen je debljinom stijenke cilindra (Elamin i sur., 2015).

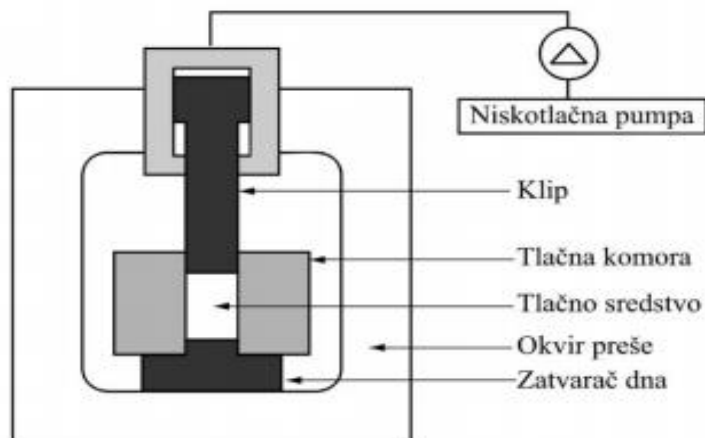
Obrada započinje pakiranjem tvari koju želimo tretirati u elastičnu ambalažu kako ne bi došlo do pucanja ili deformacije pod utjecajem ekstremnih vrijednosti tlakova. Najčešći materijali za izradu ambalaže su polivinilklorid ili polietilen. Pakirana tvar se uranja u tlačni cilindar koji se puni ili nadopunjava medijem čija je uloga prijenos tlaka. Nakon predviđenog vremena obrade tlak u uređaju se spušta na vrijednost atmosferskog tlaka. Proizvod se zatim pere, slijedi etiketiranje ambalaže te gotov proizvod odlazi na tržište (Karlović i sur., 2019).

Ovisno o temperaturi obrade, kao tlačni medij koriste se voda ili smjesa vode i propilen-glikola. Voda je najbolji izbor za obradu visokim tlakom u rasponu temperatura od 4 °C do 90 °C zbog svoje cijene, netoksičnosti, te lakšeg manipuliranja i čišćenja ambalaže proizvoda nakon obrade. Stoga se u industriji koristi isključivo voda kao tlačni medij. Propilen-glikol je isto netoksična tvar (do određene granice se ubacuje i u hranu), ima nižu točku ledišta i višu vrelišta od vode, te se može koristiti za zamrzavanje (temperature ispod 0 °C do -50 °C) ili istovremenu toplinsku i tlačnu obradu radi sterilizacije (do 130 °C). S obzirom na specifičnost upotrebe i cijene takvih postupaka obrade, ne koristi se u industriji, eventualno miješanjem s vodom u omjeru 10:90 % kako bi se smanjila korozivnost vode na metalne dijelove opreme (Karlović i sur., 2019).

Visok tlak može se generirati izravnom ili posrednom kompresijom (direktna ili indirektna metoda). Kod uređaja s izravnom kompresijom, tekućina za prijenos tlaka komprimira se u spremniku pomoću klipa kojeg pokreće niskotlačna pumpa. Za razliku od izravne kompresije, prilikom metode posredne kompresije koristi se pojačivač tlaka čija je uloga pumpanje medija za prijenos tlaka iz rezervoara u zatvoreni visokotlačni spremnik sve do postizanja željene vrijednosti tlaka. Metoda posredne kompresije nalazi veću primjenu u industriji (Koutchma, 2014).

Postrojenja za obradu hrane visokim tlakom mogu biti diskontinuirana (konvencionalna), polukontinuirana i kontinuirana. Diskontinuirani (Slika 1), odnosno šaržni sustav primjenjuje se prilikom obrade čvrstih i tekućih namirnica pakiranih u odgovarajuću ambalažu. Za namirnice koje se mogu pumpati (tekuće namirnice kao što je voćni sok), primjenjuju se polukontinuirani i kontinuirani sustavi. Tekuća namirnica se u tom slučaju pumpa u visokotlačni spremnik i komprimira upotrebom plutajućeg klipa koji odvaja tekuću namirnicu od medija za prijenos tlaka. Takav proizvod se nakon tretiranja visokim tlakom mora

aseptično puniti u ambalažu kako bi se izbjegla sekundarna kontaminacija (Van den Berg i sur., 2001).



Slika 1. Diskontinuirani uređaj za obradu visokim tlakom (Lovrić, 2003)

2.1.3. Utjecaj visokih tlakova na mikroorganizme i enzime

Na mikrobiološki sastav hrane tretirane visokim hidrostatskim tlakom utječu brojni parametri: temperatura i vrijeme obrade, tlak, vrsta mikroorganizma (bakterije, plijesni, kvasci), oblik u kojem se mikroorganizmi nalaze (vegetativni ili spore), uvjeti okoline u kojima se mikroorganizmi razmnožavaju (Bosiljkov i sur., 2010). Inaktivacija mikroorganizama odvija se zbog oštećenja različitih fragmenata stanice uzrokovanih promjenom na proteinima, ribosomima, propusnosti stanične membrane, enzimskoj aktivnosti i sintezi proteina (McKay i sur., 2011). Gram pozitivne bakterije, poput *L. monocytogenes* i *S. aureus*, otpornije su na utjecaj visokih tlakova nego gram negativne. Vegetativne stanice pokazuju znatno manju otpornost nego spore. Primjerice, kako bi inaktivirali vegetativne oblike stanica potrebno je primijeniti temperaturu od 23 °C i tlak u rasponu od 400 do 600 MPa, dok bi za inaktivaciju spora obradu morali vršiti pri ekstremnijim uvjetima temperature koja mora biti preko 70 °C i tlaka čak do 1000 MPa. Vrijednosti tlaka 400 – 600 MPa u vremenskom intervalu do 5 minuta pokazale su se dovoljnima za inaktivaciju većine parazita i mikroorganizama koji imaju najveći utjecaj na kvarenje namirnica (Moermann, 2005; Bosiljkov i sur., 2010).

Kako bi proizvod bio otporan na kvarenje kroz duži vremenski period te zadržao svježinu, osim inaktivacije mikroorganizama potrebno je i inaktivirati određene enzime.

Primjerice, da bi voćni proizvod zadržao strukturu, boju i aromu potrebno je inaktivirati enzime kao što su celulaza, hemicelulaza, peroksidaza i polifenol oksidaza. Za stabilnost enzima odgovornima se smatraju disulfidne veze (sekundarna struktura) i nekovalentne veze kao što su vodikove veze, van der Waalsove sile te nekovalentne interakcije (tercijarna i kvartarna struktura). Pri tlaku od 100 MPa i više doći će do promjene tercijarnih i kvartarnih struktura enzima, a samim time i do promjene njihove aktivnosti (Augusto i sur., 2018). Enzimi odgovorni za kakvoću namirnice imaju različitu osjetljivost na visoki tlak. Neki od njih mogu izgubiti aktivnost pri sobnoj temperaturi i vrijednosti tlaka od nekoliko stotina MPa, dok primjerice enzimi poput pektin – metil esteraze u jagodama ostaju aktivni čak i nakon tretiranja tlakom od 1200 MPa. Aktivnost enzima nakon tretiranja tlakom ovisi i o pH vrijednosti, temperaturi te o sastavu namirnice (Lelas, 2006).

2.1.4. Mogućnosti primjene visokog hidrostatskog tlaka u prehrambenoj industriji

Primjena visokog hidrostatskog tlaka u mljekarskoj industriji istraživana je, osim u svrhu inaktivacije mikroorganizama i nativnih enzima, radi ispitivanja njegovog utjecaja na smanjenje trajanja zrenja sireva, kao i za prevenciju prekomjernog zakiseljavanja jogurta. Utvrđeno je kako visok hidrostatski tlak ima potencijala u proizvodnji sireva radi smanjenja mikrobiološke aktivnosti te kraćeg trajanja faze zrenja uzrokovano promjenama aktivnosti određenih enzima. Obrada mlijeka visokim tlakom tijekom proizvodnje jogurta u konačnici uzrokuje brojne pozitivne učinke poput povećanja brzine koagulacije, koagulacije mlijeka pri višim pH vrijednostima, nastajanje gela veće čvrstoće, ali i javljanja sinereze u manjoj mjeri zbog povećanja udjela proteina sirutke u jogurtu (Trujillo i sur., 2000; Fandino-Lopez, 2006; Huppertz i sur., 2006).

Jedan od prvih voćnih proizvoda obrađen visokim tlakom bio je zreli avokado s rokom trajanja do čak 30 dana. Nakon toga tehnologija se proširila i na obradu drugih proizvoda od voća i povrća kao što su salse, voćni sokovi, džemovi i smoothieji. Visoki tlak inaktivira mikroorganizme koji su najviše zastupljeni u voću i povrću (*Salmonella*, *E. Coli*, *L. Monocytogenes*), ne utječe na promjenu boje proizvoda te omogućuje duži vremenski period zadržavanja svježine nego što bi to bilo u slučaju obrade konvencionalnim metodama. Prilikom proizvodnje sokova ili drugih napitaka visokim tlakom nije potrebno dodavanje konzervansa zbog čega njegova uporaba bilježi porast (Koutchma, 2014).

Osim u proizvodnji mliječnih proizvoda te proizvoda od voća i povrća, visok tlak ima veliki potencijal za primjenu u mesnoj industriji posebice ako se kombinira drugim postupcima obrade poput prethodnog pakiranja u vakuumu, zagrijavanja na umjerenim temperaturama i

hladnim skladištenjem. Dokazano je kako su optimalni uvjeti obrade mesnih proizvoda s ekonomskog stajališta i stajališta mikrobne inaktivacije pri vrijednostima tlaka 400 – 600 MPa, temperaturi 0 – 70 °C i vremenu obrade 1 – 10 minuta (Zhao i sur., 1998). Osim za inaktivaciju mikroorganizama, visok hidrostatski tlak koristi se za zamrzavanje i odmrzavanje mesa, ali i drugih namirnica postupnim povećanjem tlaka do 220 MPa i snižavanjem temperature od 0 °C do -22 °C. Brzim smanjenjem tlaka dolazi do stvaranja velikog broja malih homogenih kristala leda koji ne narušavaju teksturu mesa ili neke druge namirnice (Bosiljkov i sur., 2010; Martino i sur., 1998).

2.2. SMOOTHIE

Smoothie (engl. smooth – nježan, kremast) je kremasti napitak u čijem se sastavu obično nalaze različite vrste voća, voćni sok, led, jogurt ili neki drugi mliječni proizvod. Dakle, u njegovom sastavu nalaze se samo prirodni sastojci (Smith i sur., 2013). Na tržištu se nalaze kao svježe pripremljeni ili blago pasterizirani proizvodi. U posljednje vrijeme postaju sve popularniji oblik konzumacije voća. Bogati su fitokemikalijama, primjerice polifenolima. Kako bi smoothieji bili mikrobiološki stabilni te izgledom i okusom prihvatljivi potrošačima, za njihovu obradu može se koristiti visoki hidrostatski tlak kojim se izbjegavaju neželjene promjene u organoleptičkim, teksturalnim i nutritivnim svojstvima (Keenan i sur., 2011). Obrada se uobičajeno odvija pri tlakovima 300 – 600 MPa i vremenu zadržavanja do 10 min (Picouet i sur., 2016; Bosiljkov i sur., 2018).

Uz kravlje mlijeko, kao baza smoothieja najčešće se koristi sojino mlijeko radi prirodno emulgirajućih svojstava zbog kojih je omogućena dodatna stabilnost višekomponentnih sustava (Bosiljkov i sur., 2018). Obično su proizvodi sa sojinim mlijekom namijenjeni potrošačima koji ne mogu konzumirati kravlje mlijeko zbog intolerancije na laktozu, alergije na proteine mlijeka ili koji ne konzumiraju namirnice životinjskog podrijetla iz etičkih razloga. Sojino mlijeko proizvodi se iz sojinog zrna bogatog visokovrijednim proteinima, nezasićenim masnim kiselinama, biljnim vlaknima te izoflavonima. Uočeno je kako sojini proteini pomažu u smanjenju razine kolesterola, smanjuju rizik oboljenja od određenih vrsta karcinoma, osteoporoze i žučnih kamenaca, ublažavaju simptome menopauze. Za sojine izoflavone se vjeruje kako smanjuju rizik oboljenja od karcinoma povezanih s estrogenom aktivnošću poput raka dojke, maternice ili prostate (Božanić, 2006).

Zbog bogatog izvora prehrambenih vlakana, monosaharida, minerala te biološki aktivnih spojeva, jabuka zauzima važno mjesto u prehrani ljudi (Boyer i Liu, 2004). Voda i ugljikohidrati čine glavninu ploda jabuke, dok je od vitamina najzastupljeniji vitamin C. U

mineralnom sastavu jabuke prevladavaju kalij, magnezij i kalcij (Gerhauser, 2008). Koncentracija biološki aktivnih spojeva ovisi o sorti, vremenu berbe i skladištenju jabuka. Uočeno je kako svježja jabuka ima veći udio slobodnih polifenolnih spojeva u odnosu na ostalo voće, čime se povećava njihova biodostupnost. Brojne studije pokazale su kako jabuke imaju značajnu ulogu u prevenciji razvitka raka, srčanih bolesti, astme i dijabetesa tipa II (Boyer i Liu, 2004).

Indijski oraščić (*Anacardium occidentale L.*) je bogat izvor proteina, vitamina (D, E, A, K) i minerala (fosfor, kalcij, željezo). Osim toga, vrijedan je izvor magnezija i bakra. Radi visokog udjela antioksidansa štiti od nastanka bolesti krvožilnog sustava, raka, bolesti zglobova i sive mrežnice. Od ostalih orašastih plodova razlikuje se po znatno manjem udjelu masti. Dvije trećine masti u indijskom oraščiću su u obliku nezasićenih masnih kiselina od kojih 75 % čini oleinska kiselina djelotvornog utjecaja na zdravlje srca (Maleš i De Lai, 2019).

Konopljinu ulje proizvodi se prešanjem sjemenki konoplje (*Cannabis sativa L.*). U svom sastavu sadrži nutritivno vrijedne komponente kao što su esencijalne masne kiseline (linolenska i linolna) i tokoferol. Pozitivno djeluje na imunološki sustav i opće zdravstveno stanje organizma (Škevin i sur., 2011). Zbog visokog udjela γ -linolenske kiseline smanjuje razinu kolesterola u krvi te tako štiti organizam od ateroskleroze ili srčanog udara (Vujasinović, 2012).

Ulje sjemenki lana (*Linum usitatissimum L.*), poput indijskih oraščića, ima pozitivan utjecaj na zdravlje srca i krvožilnog sustava te smanjuje razinu kolesterola. Osim toga, smanjuje rizik od nastanka raka dojke i jajnika, imaju antikancerogena svojstva i pomaže zdravlju debelog crijeva (Šimetić, 2008). Bogato je omega – 3 masnim kiselinama čija se konzumacija preporučuje radi jačanja imuno sustava i funkcija mozga (Senila i sur., 2020).

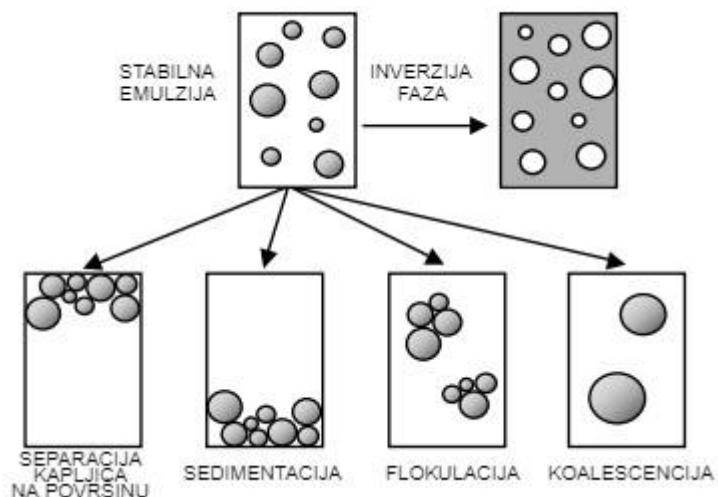
2.3. EMULZIJE

Emulzije su disperzni sustavi sastavljeni od dviju faza koje se međusobno ne miješaju. Jedna faza (disperzna faza) javlja se u obliku kapljica suspendiranih u drugoj, kontinuiranoj fazi (disperzno sredstvo). Postoje tri različita tipa emulzije. Prva od njih je emulzija ulja u vodi (U/V) gdje su kapljice ulja suspendirane u vodenoj kontinuiranoj fazi. Primjer takvih emulzija je sladoled. Drugi tip emulzije je voda u ulju (V/U) gdje su kapljice vode raspoređene u uljnoj fazi kao što je slučaj kod margarina ili maslaca. Treća vrsta je emulzija vode u ulju u vodi (V/U/V) što je ustvari emulzija ulje u vodi čije kapljice sadrže kapljice vode. Takve emulzije su

znatno teže za napraviti nego prethodno navedena dva tipa emulzija i rjeđe se pojavljuju (Dalglish, 2004).

Emulzije se pripremaju miješanjem uljne i vodene faze pri čemu dolazi do stvaranja sitnih kapljica disperzne faze. Smanjenjem veličine kapljica disperzne faze, povećava se dodirna površina faza te one nastoje prijeći u stanje manje dodirne površine zbog čega su emulzije izrazito nestabilni sustavi. Takav proces spajanja dviju tekućina koje se ne miješaju u emulziju poznat je kao homogenizacija i provodi se pomoću mehaničkih uređaja poznatih kao homogenizatori. Kako bi stvorene emulzije bile stabilne u određenom vremenskom periodu (nekoliko dana, mjeseci ili godina), najčešće se dodaju emulgatori. Emulgatori su površinski aktivne tvari koje se apsorbiraju na površinu netom formirane kapljice nastale prilikom homogenizacije te tako formiraju zaštitni sloj koji sprječava da se kapljice približe i da tako dođe do njihovog spajanja (kapljice se međusobno odbijaju). Većina emulgatora su amfifilne molekule, odnosno imaju polarne i nepolarne regije. Najčešći emulgatori koji se koriste u prehrambenoj industriji su male molekule surfaktanta, fosfolipidi, proteini i polisaharidi. Osim dodatkom emulgatora, emulzije se mogu stabilizirati dodatkom tvari koje će smanjiti razliku u gustoćama između disperzne tvari i disperznog sredstva i povećati viskoznost emulzije. Takve tvari povećavaju stabilnost emulzije usporavanjem kretanja kapljica (McClements, 2004).

Postoje različiti fizikalni procesi zbog kojih dolazi do razdvajanja faza u emulzijama: separacija kapljica na površinu ili dno, flokulacija, koalescencija, inverzija faza (Slika 2). Pod utjecajem gravitacije disperzne kapljice mogu migrirati na površinu (ako su manje gustoće od gustoće disperznog sredstva) ili se mogu taložiti na dnu, odnosno sedimentirati (u slučaju kada je gustoća disperzne faze veća nego gustoća disperznog sredstva). Flokulacija i koalescencija su procesi u kojima dolazi do agregacije kapljica. Prilikom flokulacije kapljice disperznog sredstva se okupljaju formirajući agregat u kojem kapljice zadržavaju svoj integritet, dok se u slučaju koalescencije dvije ili više kapljica disperznog sredstva spajaju kako bi se formirala jedna veća kapljica. Koalescencija u konačnici može dovesti do potpunog odvajanja disperzne faze od disperznog sredstva gdje se onda formiraju zasebni slojevi (McClements, 2004). Takvim odvajanjem dobiju se dvije odvojene kontinuirane faze te emulzija potpuno i nepovratno gubi postojeću formu (Dalglish, 2004). Inverzija faza je proces u kojem se emulzija tipa ulje u vodi pretvara u emulziju tipa voda u ulju ili obratno (McClements, 2004). U slučaju separacije kapljica na površinu ili dno, kao i prilikom flokulacije, kapljice disperzne faze ne gube svoju individualnost tj. ne mijenja im se veličina. Zbog toga su takvi procesi povratni te se miješanjem ponovno može dobiti emulzija (Dalglish, 2004).



Slika 2. Fizikalni procesi koji uzrokuju nestabilnost emulzija (McClements, 2004)

2.4. MLJEVENJE

Mljevenje je tehnološka operacija u kojoj se primjenjuje mehanička sila kako bi se smanjila veličina čestica čvrstih materijala. Tijekom mljevenja dolazi do pucanja namirnice zbog posljedice stresa uzrokovanog mehaničkim dijelovima mlina. Stupanj usitnjavanja ovisit će o jačini sile koja se primjenjuje na materijal te o vremenu kojem je materijal podvrgnut tim silama. Na početku mljevenja energija se apsorbira kao energija naprezanja. U trenutku kada lokalna energija naprezanja dostigne kritičnu razinu dolazi do prijeloma i oslobađanja pohranjene energije. Dio energije se troši na stvaranje nove površine, dok se veći dio oslobađa u obliku topline. Kritična razina naprezanja ovisi o svojstvima materijala podvrgnutom mljevenju. Primjerice, kruta hrana s malim udjelom vode je krhka i jednostavna za mljevenje. Isto tako, niska temperatura uzrokuje promjenu mehaničkih svojstava hrane pri čemu ona postaje krhka i lako se drobi što doprinosi finijem mljevenju. Kako bi se smanjila veličina sirovine koriste se tri vrste sila: sile kompresije, udarne sile i atricijske sile (sile trenja). Neki od uređaja koji se koriste za mljevenje su: mlin čekičar, valjčani mlinovi, kameni mlinovi, disk mlinovi, kuglični mlinovi, strujni mlinovi itd. (Earle i Earl, 1983; Dziki i sur., 2012).

Prema Kickovom pravilu energija potrebna za usitnjavanje proporcionalna je omjeru promjera čestica prije i nakon mljevenja. Nadalje, prema Rittingerovom pravilu, ulazna energija proporcionalna je novonastaloj površini. Dok je, prema Bondovom pravilu, rad potreban za mljevenje proporcionalan korijenu omjera površine i volumena nastalog produkta. Kickove, Rittingerove i Bondove formule se najčešće koriste kod računanja potrebe za energijom prilikom mljevenja (Dziki i sur., 2012).

2.5. RASPODJELA VELIČINE ČESTICA

Svojstva disperznih sustava ovise upravo o veličini čestica i njihovoj uniformiranoj raspodjeli. Primjerice, o veličini čestica ovisit će izgled, tekstura i kvaliteta okusa proizvoda. Utvrđeno je kako čestice veličine od 0,1 μm do 1000 μm imaju najveći učinak na senzorska i organoleptička svojstva prehrambenih proizvoda. Isto tako, veličina čestica u hrani utječe i na dugoročnu stabilnost emulzija (Robins, 2006).

Iako postoje razne metode određivanja raspodjele veličine čestica, danas se zbog jednostavnosti i preciznosti najčešće koristi metoda laserske difrakcije svjetlosti. Metoda laserske difrakcije temelji se na činjenici kako čestice prolaskom kroz izvor svjetlosti (laserska zraka) raspršuju svjetlost pod kutem i intenzitetom zavisno o njihovoj veličini. Prolaskom uzorka kroz lasersku zraku, manje čestice će raspršivati svjetlost pod većim kutem slabijeg intenziteta, dok će veće čestice raspršiti svjetlost pod manjim kutem s višim intenzitetom (Keck i Müller, 2008).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Prilikom izrade eksperimentalnog dijela završnog rada, kao sirovina za pripremu smoothieja korišteno je sojino mlijeko (50 %), sok od jabuke (45 %), mljeveni indijski oraščići (5 %), ulje lana ili konoplje (1 mL). Uzorci smoothieja su neposredno prije obrade termostatirani na 20 °C.

3.2. METODE RADA

3.2.1. Priprema sojinog mlijeka

Sirovo sojino zrno (50 g) postavlja se u mrežicu ekstraktora uređaja „Soylove, koja je uronjena u 1800 ml vode i zagrijavana na 80 °C. Mlijeko se nakon provedenog mljevenja, ekstrakcije i hlađenja filtrira i pohranjuje u hladnjak na 4 °C.

3.2.2. Priprema soka od jabuke

Prije cijedenja, jabuke je potrebno oprati i ukloniti sjemenu ložu i peteljku. Za pripremu soka od jabuke koristio se sokovnik „VerVita Hurom HU–100“ snage 150 W, brzine okretaja 42 o min^{-1} , promjera filtera 0,5 mm. Proizvedenom soku, prije dodatka u smoothieje, potrebno je ukloniti pjenu nastalu cijedenjem.

3.2.3. Usitnjavanje indijskih oraščića

Indijski oraščići usitnjavani su u laboratorijskom mlinu s nožem „RETSCH GM 300“ snage 1,5 kW, brzine okretaja od 500 do 4000 o min^{-1} u koracima od 100 o min^{-1} (Slika 3). Usitnjavanje je provedeno pri 4000 o min^{-1} s vremenom usitnjavanja 15 i 45 sekundi.



Slika 3. Uređaj za usitnjavanje RETSCH GM 300

3.2.4. Predobrada ultrazvukom

Obzirom na složenost uzoraka, s ciljem dobivanja što homogenijeg uzorka s jednolikom raspodjelom svih komponenata po cijelom volumenu, uzorci su podvrgnuti kratkoj izloženosti ultrazvuku visokog intenziteta. Koristio se ultrazvučni procesor „Hielscher UP 100 H“, snage 100 W, primjena 80 % amplitude, u vremenu obrade od 60 s sa sondom promjera 7 mm. Kružnim pokretima i promjenom dubine urona sonde (1 – 3 cm) željela se postići primarna homogenost prije obrade visokim hidrostatskim tlakom. Utjecaj ultrazvuka na željeni efekt (kavitacija) pokazao se znatno učinkovitijim u odnosu na prethodno testirane metode miješanja pri visokom broju okretaja miješalice, nakon čega bi sustav u vrlo kratkom vremenu izgubio stabilnost i postojanost.

3.2.5. Obrada visokim hidrostatskim tlakom

Za obradu smoothieja visokim hidrostatskim tlakom korišten je uređaj „Stansted Fluid Power“, Velika Britanija (Slika 4) volumena 2 L i maksimalnog tlaka 900 MPa. Uzorci su obrađeni u plastičnim bocama od 100 mL začepljenim plastičnim čepom. Napunjene bočice vakumirane su u jednokratnu plastičnu ambalažu. Vakuumiranje je provedeno u uređaju za vakuumiranje „STATUS SV2000“. Na taj način pripremljeni uzorci se postavljaju u radni cilindar ispunjen propilen – glikolom koji služi kao tlačna tekućina. Obrada je provedena pri vrijednostima tlaka od 300 i 450 MPa s vremenom trajanja obrade 9 i 15 minuta.



Slika 4. Uređaj za obradu namirnica visokim hidrostatskim tlakom Stansted Fluid Power

3.2.6. Mjerenje apsorbancije

Apsorbancija je mjerena spektrofotometrom „Konica Minolta CM3500d, Japan“ (Slika 5). Uređaj je prije upotrebe kalibriran destiliranom vodom. Mjere se uzorci temperature 20 °C u staklenoj kiveti promjera 1 cm, napunjene uzorkom do oznake. Uzorcima je određena apsorbancija u širokom spektru valnih duljina. Sukladno karakteristikama uzoraka izmjerena je i izuzeta odabrana valna duljina od 720 nm (A_{720}) prije i nakon obrade visokim hidrostatskim tlakom u intervalima od 15 minuta u ukupnom trajanju do 120 minuta i nakon 24 h. Obradeni uzorci visokim hidrostatskim tlakom prije mjerenja apsorbancije su dobro izmiješani i tijekom 2 h mjerenja u staklenoj kiveti nisu protresani. Mjerenje je ponovljeno u istim uvjetima nakon 24 sata.



Slika 5. Kolorimetar KONICA-MINOLTA CM-3500-d

3.2.7. Mjerenje gustoće

Za određivanje gustoće pripremljenih uzoraka korišten je mjerač gustoće „Mettler Toledo DE40“, Švicarska (Slika 6) raspona mjerenja od $0,0000 \text{ gcm}^{-3}$ do $3,0000 \text{ gcm}^{-3}$. Kako bi se uređaj doveo u stanje za mjerenje, potrebno je prije mjerenja isprati radnu komoru uređaja destiliranom vodom te pomoću pumpe izbaciti sadržaj. Gustoća je mjerena injektiranjem približno 1 mL uzorka pomoću plastične šprice. Vrijednost gustoće očitava se nakon automatske korekcije temperature na 20°C s točnošću od $0,0001 \text{ gcm}^{-3}$.



Slika 6. Mjerač gustoće Mettler Toledo DE 40

3.2.8. Određivanje prividne viskoznosti

Prividna viskoznost uzoraka određena je na uređaju „Fungilab ALPHA“ uz mjerno vratilo oznake L2 (Slika 7). Mjerenja su provedena prije obrade visokim hidrostatskim tlakom te neposredno nakon obrade. Mjerenje započinje uranjanjem mjernog vratila do oznake u staklene čaše napunjene uzorkom. Određivanje se vršilo pri različitim brzinama okretaja mjernog vratila (smičnim brzinama) od 100, 60, 50, 30 i 20 o min^{-1} .



Slika 7. Digitalni viskozimetar Fungilab ALPHA

3.2.9. Određivanje raspodjele veličine čestica

Pomoću uređaja „Mastersizer 2000“ (Slika 8) određivana je raspodjela veličine čestica prije i neposredno nakon obrade uzoraka visokim tlakom te nakon 2 h. Uzorci nakon obrade visokim tlakom prije same analize su dobro promiješani, dok su uzorci mjereni nakon 2 h uzimani iz središnjeg dijela bočice. Mjerenje uzoraka nakon 2 h provedeno je u cilju utvrđivanja raspodjele veličine čestica nakon faze početne stabilnosti do uspostavljanja dinamičke ravnoteže. Prije mjerenja provodi se kalibracija uređaja nakon koje se postupno dodaje uzorak plastičnom špricom u vrlo malim količinama (kap po kap). Prilikom dodavanja uzorka u uređaj potrebno je pratiti stupanj zasićenja na ekranu. Dobiveni rezultati raspodjele veličine čestica prikazuju se u grafičkom obliku prikaza ovisnosti relativne učestalosti o promjeru globula izraženih u [μm].



Slika 8. Mastersizer 2000 s vanjskom jedinicom Hydro 2000S

3.2.10. Određivanje indeksa stabilnosti smoothieja (ISS)

Vrijednosti Indeksa stabilnosti smoothieja (ISS) određene su na temelju izmjerenih vrijednosti apsorbancije pri 720 nm neposredno nakon obrade visokim hidrostatskim tlakom i apsorbancije nakon 24 h. Na temelju izračunate optičke gustoće uzoraka izračunati su indeksi stabilnosti smoothieja izraženih u satima [h] (Bosiljkov, 2011).

3.2.11. Statistička obrada podataka

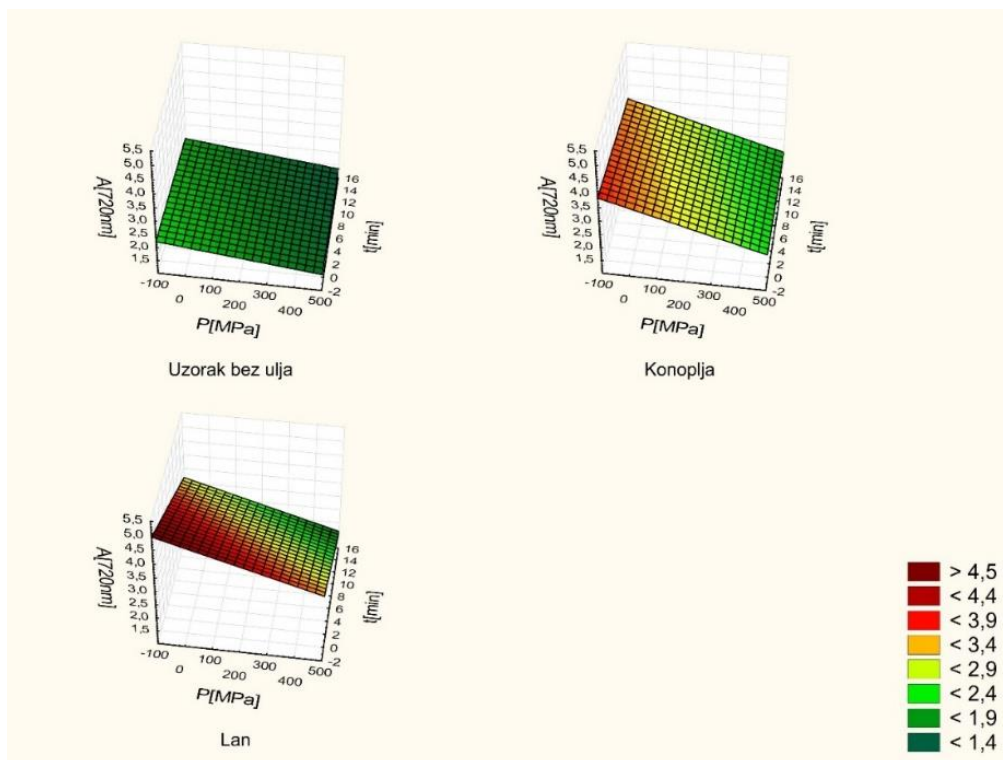
Rezultati su obrađeni pomoću programskog paketa „*Statistica 12*“. Statistička značajnost utjecaja procesnih parametara određena je analizom varijance (ANOVA) i izražena preko p – vrijednosti ($p < 0,05$).

4. REZULTATI I RASPRAVA

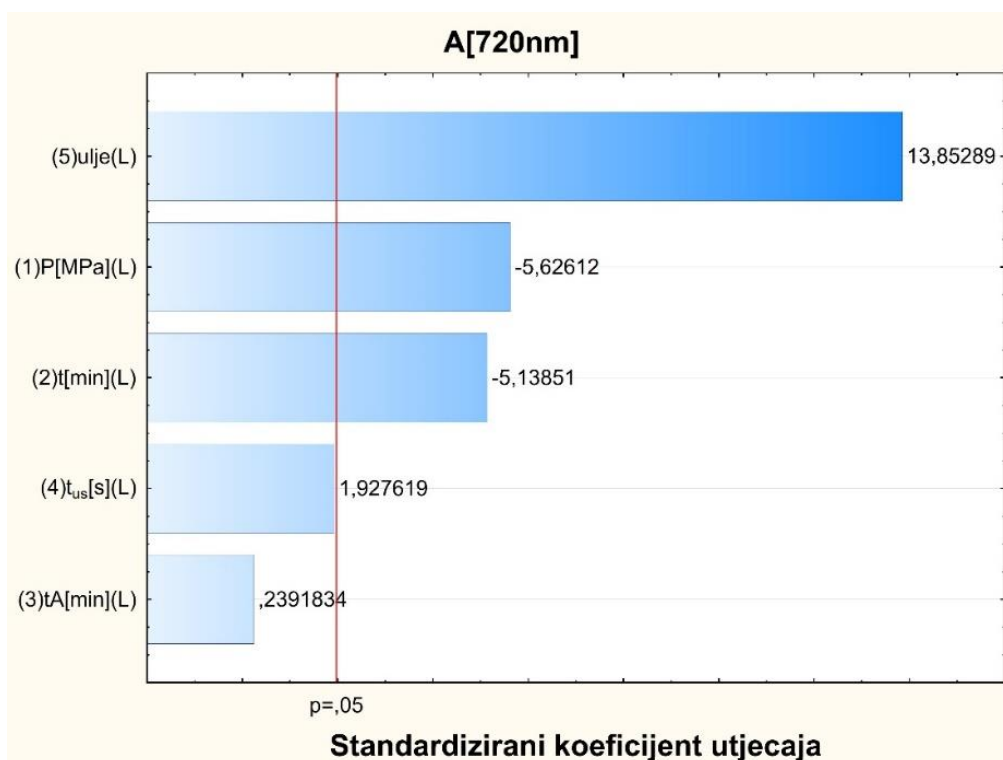
Cilj ovog završnog rada bio je pratiti utjecaj različitih tlakova i vremena obrade visokim hidrostatskim tlakom, na promjenu fizikalnih svojstva smoothieja: apsorbanciju, intervalnu apsorbanciju, t_A (izraženu kao promjenu apsorbancije (svakih 15 minuta) unutar 120 minuta), stabilnost uzoraka izraženih preko vrijednosti ISS (indeks stabilnosti smoothieja), prividnu viskoznost, gustoću, raspodjelu veličine čestica i medijan. Osim navedenog, praćen je i utjecaj dodanih komponenata (mljeveni indijski oraščić, ulje konoplje ili lana) s ciljem dodatnog povećanja stabilnosti uzoraka sa voćnom i mliječnom bazom. Različito vrijeme usitnjavanja (t_{us}) indijskog oraščića rezultiralo je različitom raspodjelom veličine čestica. Kako bi se lakše uočile promjene promatranih fizikalnih svojstava, a posebno utjecaj dodanih komponenata smoothieja rezultati su prikazani pomoću 3D – kategorijskih dijagrama (Slike 9, 11, 12, 14, 16, 18).

Značajnost razine promjene promatranih fizikalnih svojstava smoothieja prikazani su „Pareto“ dijagramima sa odgovarajućim vrijednosti β - koeficijenta utjecaja temeljenim na razini statističke značajnosti (ANOVA) (Slike 10, 13, 15, 17).

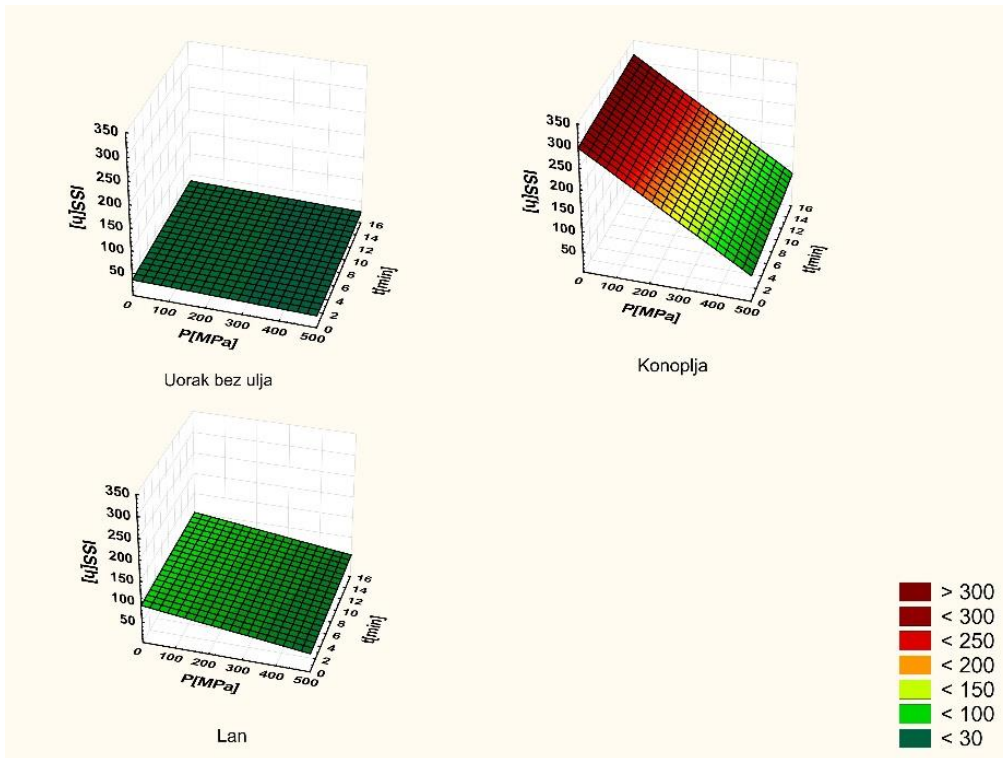
Inicijalna raspodjela veličine čestica mljevenih indijskih oraščića i ulja lana i konoplje prikazana je na Slikama 19 i 20. Utjecaj procesnih parametara na raspodjelu svih promatranih čestica prikazana je sumarno kompleksnim krivuljama odnosa relativne učestalosti koje uzimaju u obzir promjere svih čestica smoothieja (sojino mlijeko, voćni sok, indijski oraščić i ulje) sadržanih u analiziranom uzorku (Slike 21 – 24). Utjecaj procesnih parametara na vrijednost medijana $d(0,5)$ prikazan je 2D – dijagramom kategorizirano prema vrsti ulja (Slika 25).



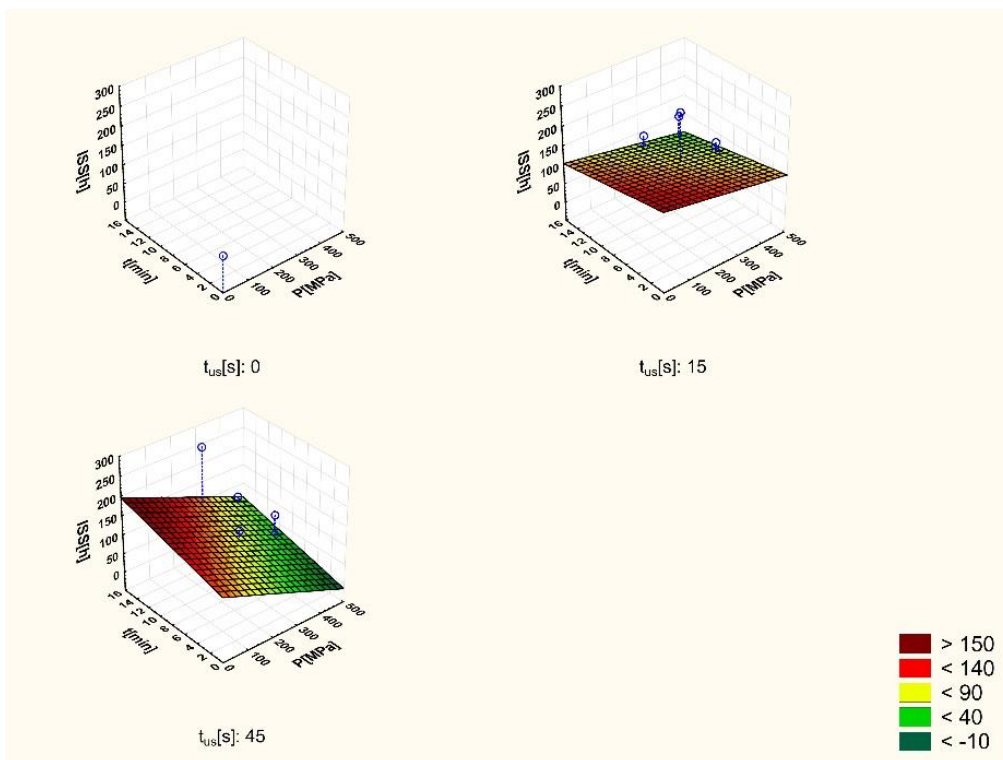
Slika 9. Utjecaj tlaka ($p = 300, 450$ MPa) i vremena obrade ($t = 9, 15$ min) na vrijednosti apsorbancije (A_{720}) kategorizirano prema vrsti ulja



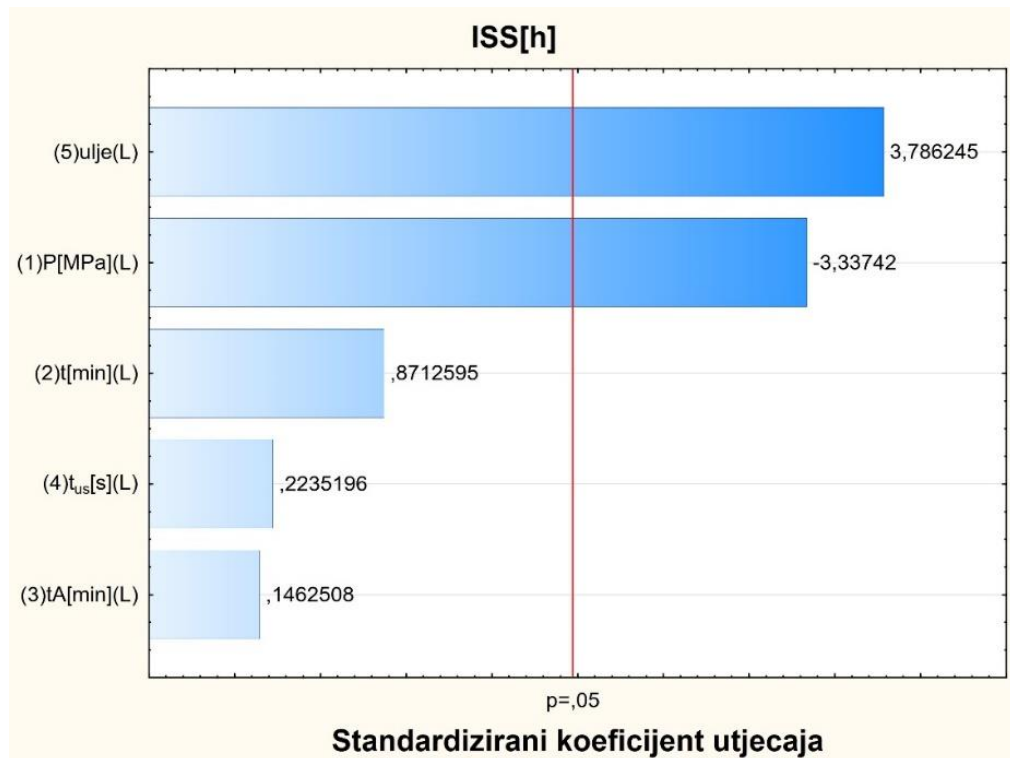
Slika 10. Pareto dijagram - utjecaj ulja (konoplja, lan); visokog hidrostatskog tlaka ($p = 300, 450$ MPa); vremena obrade ($t = 9, 15$ min); vremena usitnjavanja ($t_{us} = 14, 45$ s); vremena mjerenja ($t_A = 1, 120$ min) na vrijednosti apsorbancije (A_{720})



Slika 11. Utjecaj tlaka ($p = 300, 450$ MPa) i vremena obrade ($t = 9, 15$ min) na vrijednosti indeksa stabilnosti smoothieja bez ulja te s uljem konoplje i lana kategorizirano prema vrsti ulja



Slika 12. Utjecaj tlaka ($p = 300, 450$ MPa) i vremena obrade ($t = 9, 15$ min) na vrijednosti indeksa stabilnosti smoothieja bez ulja te s uljem konoplje i lana kategorizirano prema stupnju (vremenu) usitnjavanja [t_{us}]; [t_{us}]:0 – referentni uzorak

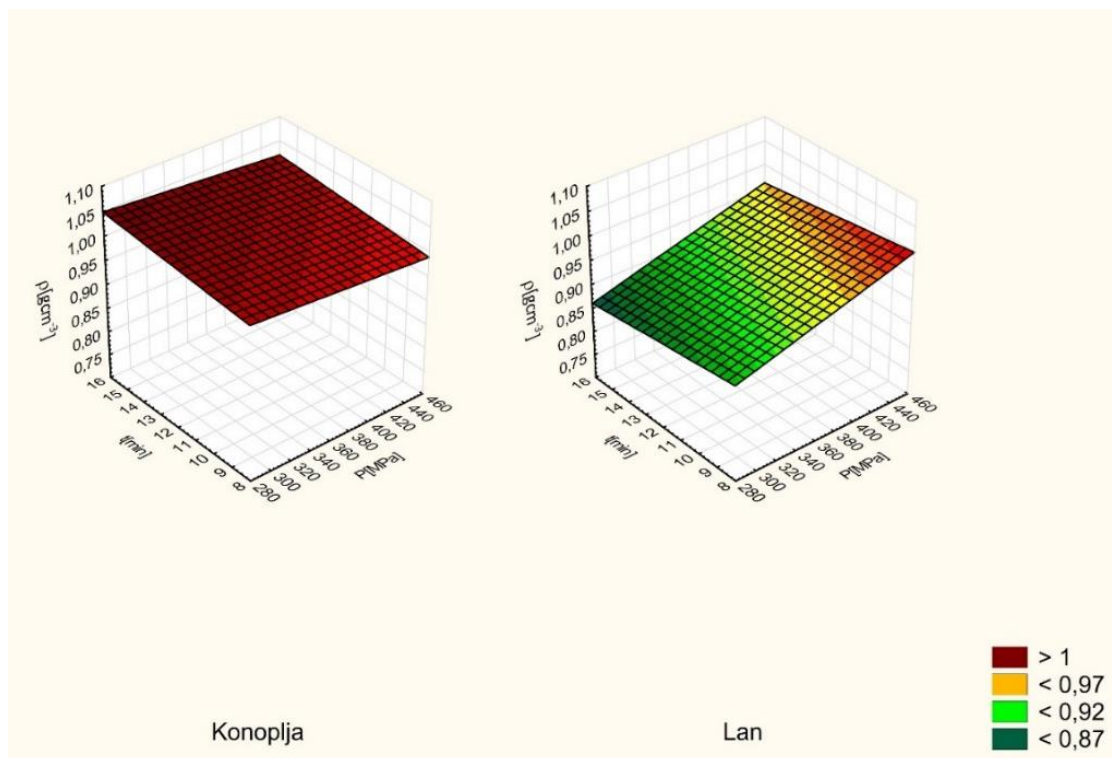


Slika 13. Pareto dijagram – utjecaj visokog hidrostatskog tlaka ($p = 300, 450$ MPa); ulja (konoplja, lan); vremena obrade ($t = 9, 15$ min); vremena usitnjavanja ($t_{us} = 14, 45$ s); vremena mjerenja ($t_A = 1, 120$ min) na vrijednosti indeksa stabilnosti smoothieja izraženog preko standardiziranog efekta utjecaja (β)

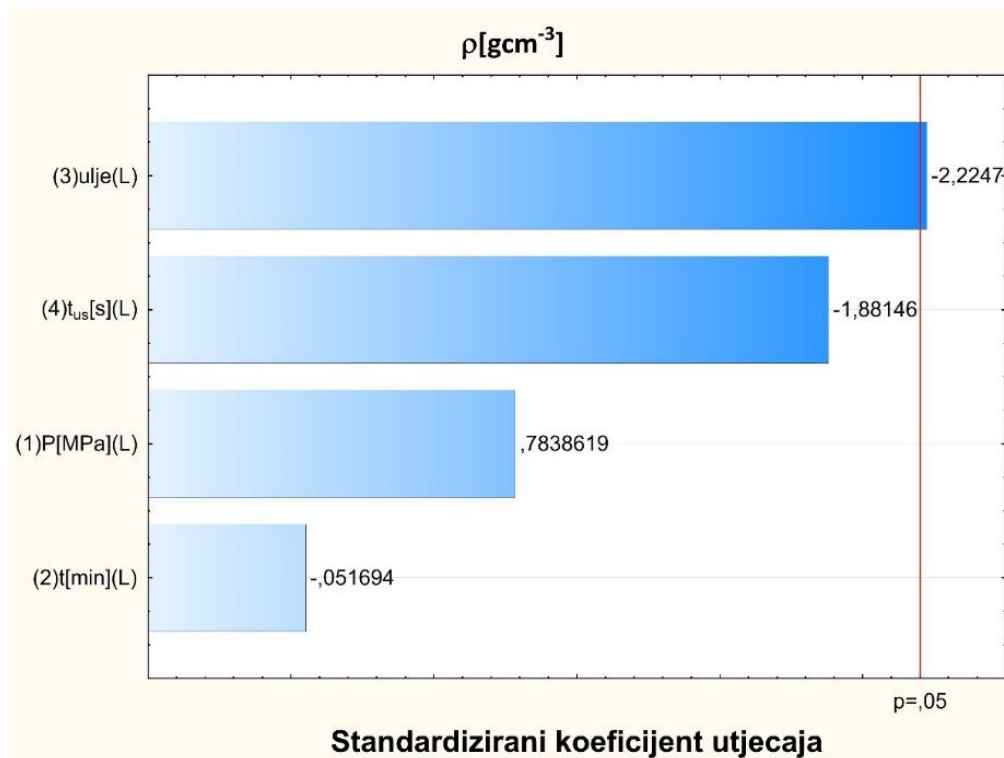
Promatranjem Pareto dijagrama (Slika 10) uočavamo kako na povećanje vrijednosti apsorbancije statistički značajno utječu tlak, vrijeme obrade visokim hidrostatskim tlakom i vrste ulja. Najznačajniji utjecaj ima prisutnost obje vrste ulja ($\beta = 13,853$) koja uzrokuje značajno povećavanje vrijednosti apsorbancije $A [720 \text{ nm}]$ u odnosu na uzorke bez ulja. Iz dobivenih vrijednosti apsorbancije teško je predvidjeti koja vrsta ulja ukazuje na trend povećanja stabilnosti uzoraka.

Promatrajući β – vrijednosti izračunatih vrijednosti ISS – a (Slika 13) nastavlja se trend utjecaja vrste ulja i visokog tlaka na stabilnost uzoraka. Vrijednosti ISS za uzorke s uljem konoplje kraću se u intervalu od 86 – 260 sati, uljem lana od 47 – 93 sati. Uzorci bez ulja pri svim vrijednostima procesnih parametara kreću se u ograničenom intervalu stabilnosti od samo 27 – 31 sat (Slika 11). Intervalna apsorbancija unutar 120 minuta nije pokazala statistički značajna odstupanja od neposredno obrađenog uzorka tako da se ISS svih uzoraka temelji na izračunu vrijednosti apsorbancije i apsorbancije nakon 24 sata.

Vrijeme usitnjavanja [t_{us}] na granici je statističke značajnosti za A [720 nm], što je očekivano rezultiralo i graničnom p – vrijednosti. Bez obzira na $p > 0,05$ može se primijetiti izraziti nagib horizontalne ravnine linearnog modela koji ukazuje na veću stabilnost uzoraka smoothieja dobivenih većim stupnjem usitnjavanja (Slika 12).

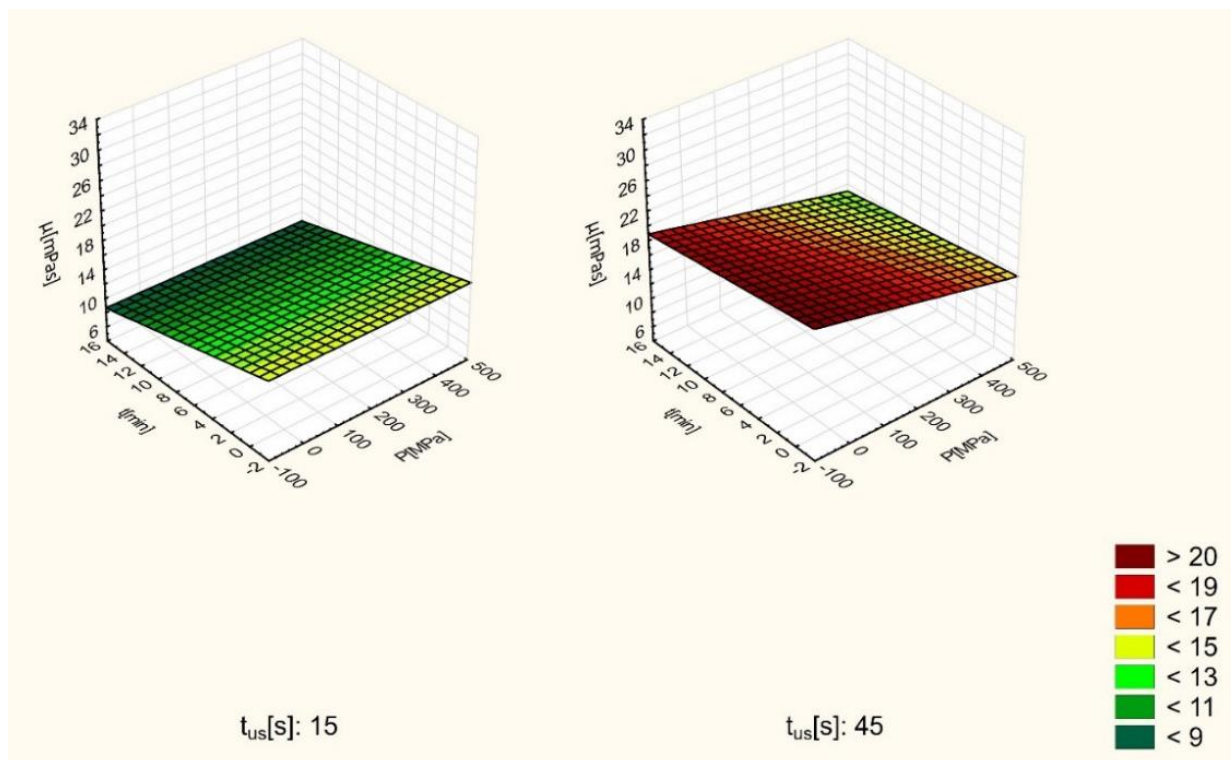


Slika 14. Utjecaj tlaka ($p = 300, 450$ MPa) i vremena obrade ($t = 9, 15$ min) na vrijednosti gustoće kategorizirano prema vrsti ulja

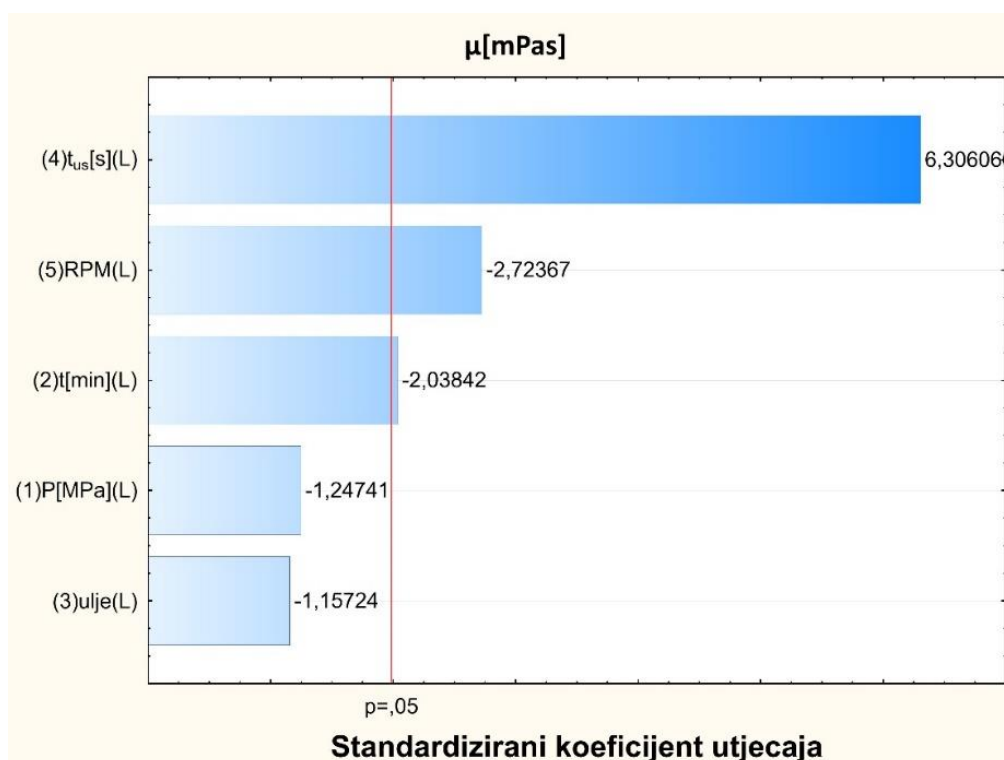


Slika 15. Pareto dijagram - utjecaj ulja (konoplja, lan); vremena usitnjavanja ($t_{us} = 14, 45$ s); visokog hidrostatskog tlaka ($p = 300, 450$ MPa); vremena obrade ($t = 9, 15$ min) na vrijednosti gustoće

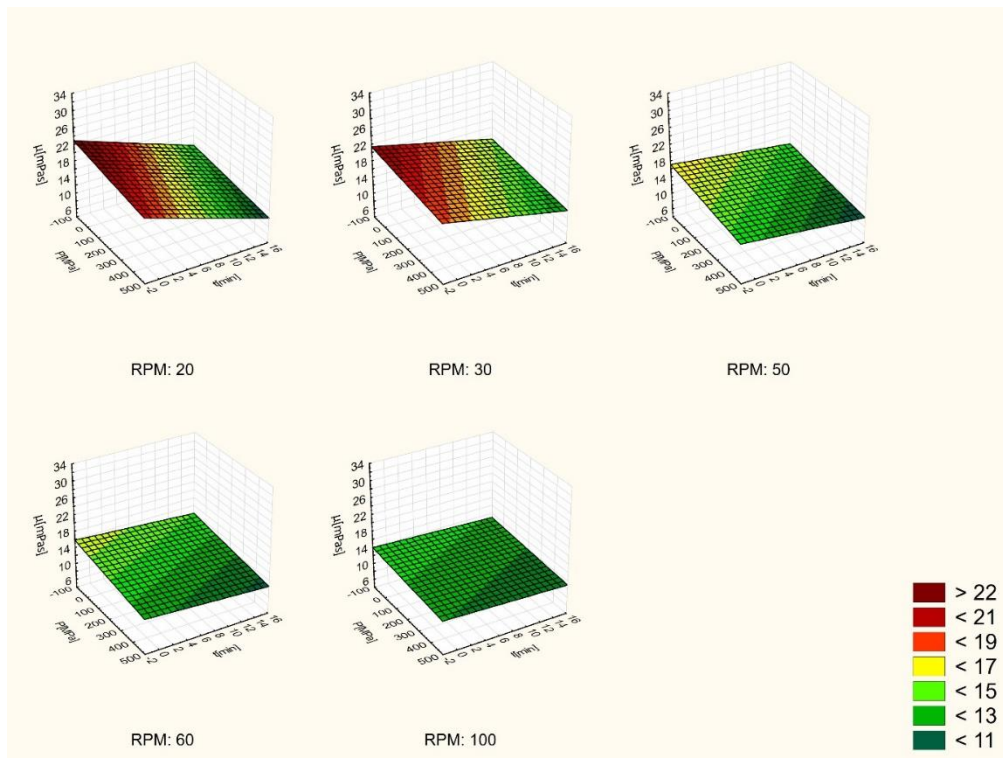
Iz Pareto dijagrama (Slika 15) vidljivo je kako vrsta ulja ima minimalan, ali ipak statistički značajan utjecaj na promjenu gustoće uzoraka, ostali procesni parametri nemaju utjecaja na promjenu gustoće. Kao i do sada, promatranjem sličnih sustava u kojima je baza bilo mlijeko (kravlje, kozje, ovčje, sojino) ili voćni i povrtni sok, primarne razlike u gustoći bile su posljedica pripreme uzoraka koje je karakterizirala različita raspodjela veličine čestica. Primjenom invazivnijih netoplinskih tehnika kao što je ultrazvuk visokog intenziteta postižu se značajnije fizikalno – kemijske promjene, što posljedično vodi do povećanja ili smanjenja gustoće uzoraka. Primjena visokih hidrostatskih tlakova nije dala očekivane rezultate što se najbolje vidi promatranjem 3D – dijagrama (Slika 14) gdje se dobivene vrijednosti gustoće za uzorke koji sadrže ulje lana kreću u intervalu od $0,87 - 1,00 \text{ g cm}^{-3}$, dok su vrijednosti gustoće uzoraka s uljem konoplje približno jednake $1,00 \text{ g cm}^{-3}$. Slično, interval izmjerene gustoće svih obrađenih uzoraka kategoriziranih prema stupnju usitnjavanja indijskih orašića za t_{us} : 15 s kreće se u intervalu vrijednosti uzoraka sa uljem konoplje, dok se za stupanj usitnjavanja t_{us} : 45 s kreće se u intervalu vrijednosti uzoraka sa uljem lana.



Slika 16. Utjecaj tlaka ($p = 300, 450$ MPa) i vremena obrade ($t = 9, 15$ min) na vrijednosti viskoznosti kategorizirano prema vremenu usitnjavanja



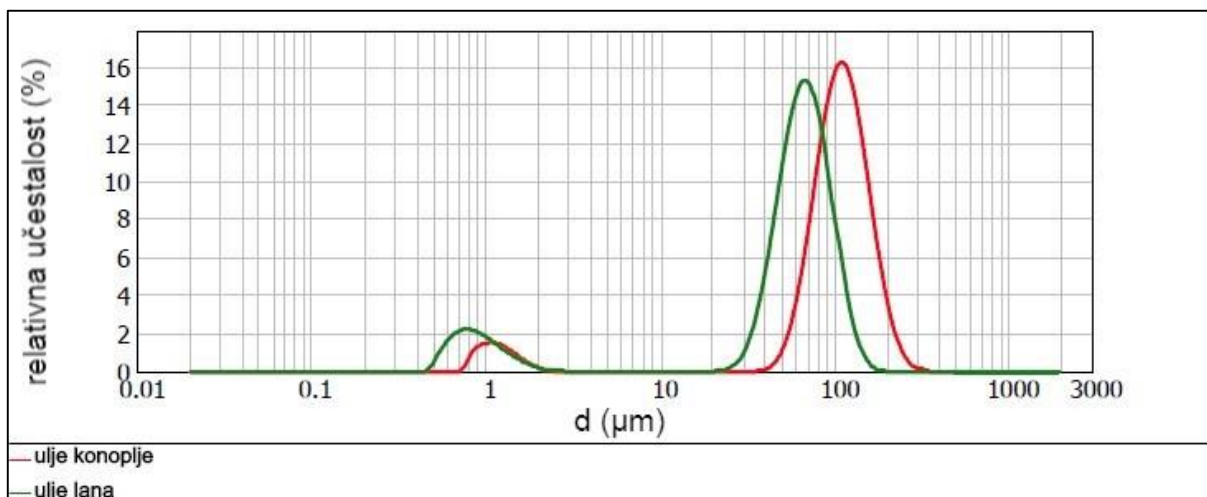
Slika 17. Pareto dijagram - vremena usitnjavanja ($t_{us}= 14, 45$ s); broja okretaja vratila (100, 60, 50, 30, 20 o min^{-1}); vremena obrade ($t = 9, 15$ min); visokog hidrostatskog tlaka ($p = 300, 450$ MPa); na viskoznost



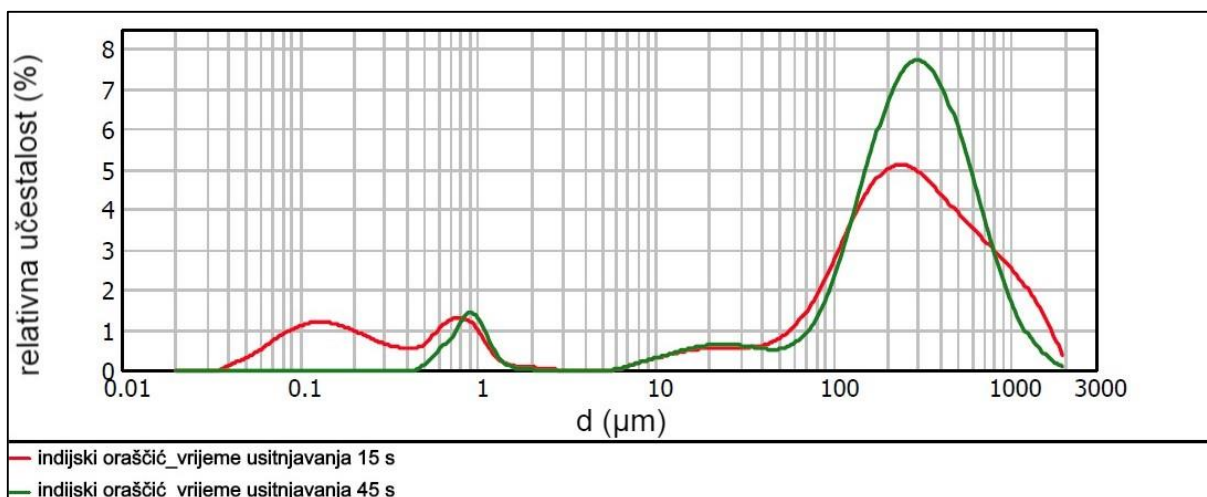
Slika 18. Utjecaj tlaka ($p = 300, 450$ MPa) i vremena obrade ($t = 9, 15$ min) na vrijednosti viskoznosti kategorizirano prema broju okretaja

Na promjenu viskoznosti statistički značajan utjecaj imaju vrijeme usitnjavanja, brzina smicanja te vrijeme obrade visokim tlakom, dok vrijednosti primijenjenog tlaka i vrsta ulja nemaju statistički značajan utjecaj. Takvi rezultati poklapaju se s istraživanjem koje su provodili Bull i sur. (2004) na uzorcima soka od naranče gdje je utvrđeno kako se viskoznost soka nakon obrade visokim tlakom nije statistički značajno razlikovala od viskoznosti svježeg neobrađenog uzorka soka ($p > 0,05$). Vrijeme usitnjavanja ima pozitivan β – standardizirani koeficijent utjecaja (Slika 17) što znači da pri dužem vremenu usitnjavanja dobivamo uzorak veće prividne viskoznosti, odnosno sitnije čestice (zbog svojeg fizikalno – kemijskog karaktera mogu aglomerirati) koje će uzrokovati povećanje prividne viskoznosti. To potvrđuje 3D dijagram (Slika 16) iz kojeg možemo uočiti kako je viskoznost uzorka s kraćim vremenom usitnjavanja $t_{us} = 15$ s u rasponu 9 – 15 mPas, dok je kod uzorka s vremenom usitnjavanja $t_{us} = 45$ s prilično veća tj. u rasponu 15 – 20 mPas.

Viskoznost uzorka je mjerena pri različitim brzinama smicanja. Pri nižim brzinama smicanja izraženija je promjena vrijednosti prividne viskoznosti (Slika 18). Radi toga, mjerenja pri manjem broju okretaja vratila možemo smatrati reprezentativnijima. Pošto brzina smicanja ima statistički značajan učinak na viskoznost, dobiveni smoothie ima NeNewtonski karakter.



Slika 19. Ovisnost relativne učestalosti o promjeru globula referentnih uzoraka ulja konoplje i lana



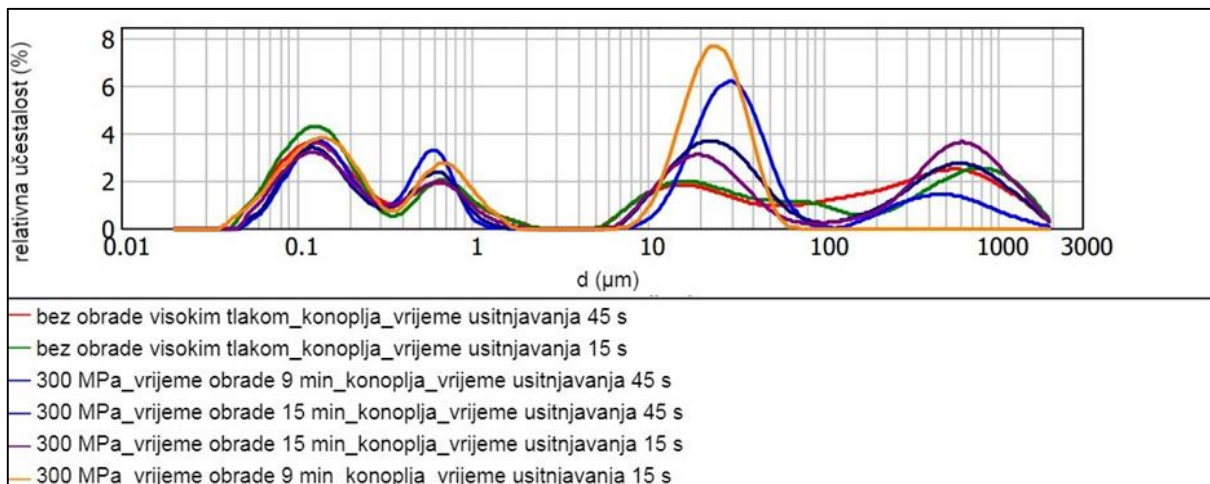
Slika 20. Ovisnost relativne učestalosti o promjeru čestica mljevenih indijskih oraščića nakon 15 i 45 s

Kako bi se što jasnije interpretirale razlike u multimodalnosti dobivenih krivulja raspodjele i jasnije predočile razlike u raspodjeli veličine čestica prije i nakon obrade izolirana je raspodjela mljevenih indijskih oraščića i ulja lana i konoplje s ciljem naglašavanja osnovnog fizikalnog svojstva ova dva medija koji dovode do do sada prikazanih fizikalnih razlika u promatranim svojstvima. Obzirom na složenost uzorka, multimodalnost krivulja s više vrijednosti moda je neizbježna. Upravo zato je interpretacija ovakvih sustava vrlo zahtjevna i složena.

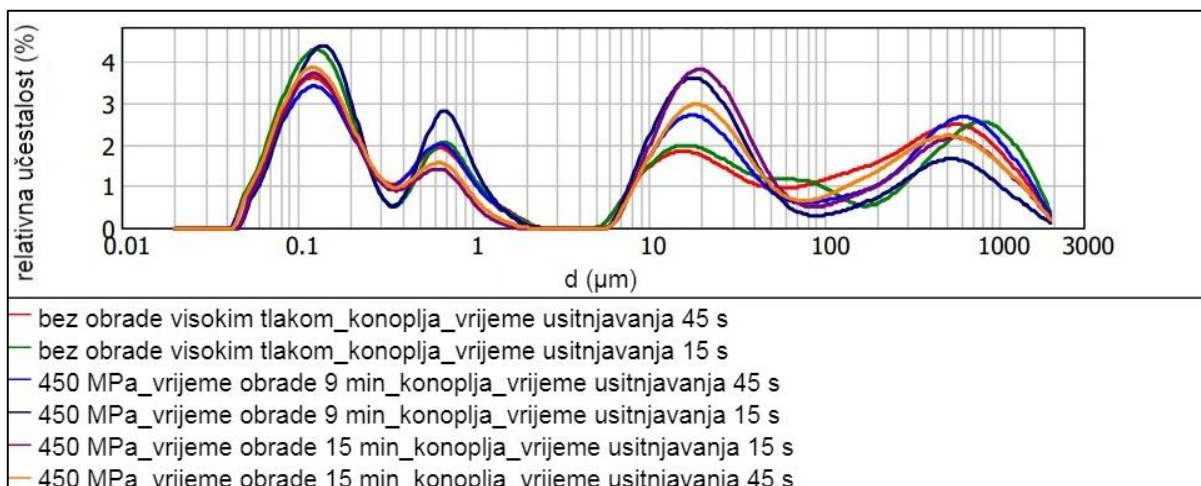
Referentna raspodjela veličine globula ulja konoplje i ulja lana s većom razinom pouzdanosti (u odnosu na izmjerene vrijednosti apsorbancije) preudicira da veća vrijednost medijana (50 % - tna veličina) ulja konoplje (107,8 μm) u odnosu na ulje lana (63,5 μm)

nakon obrade visokim tlakom dovodi do statistički značajne razlike u stabilnosti uzoraka (Slika 19).

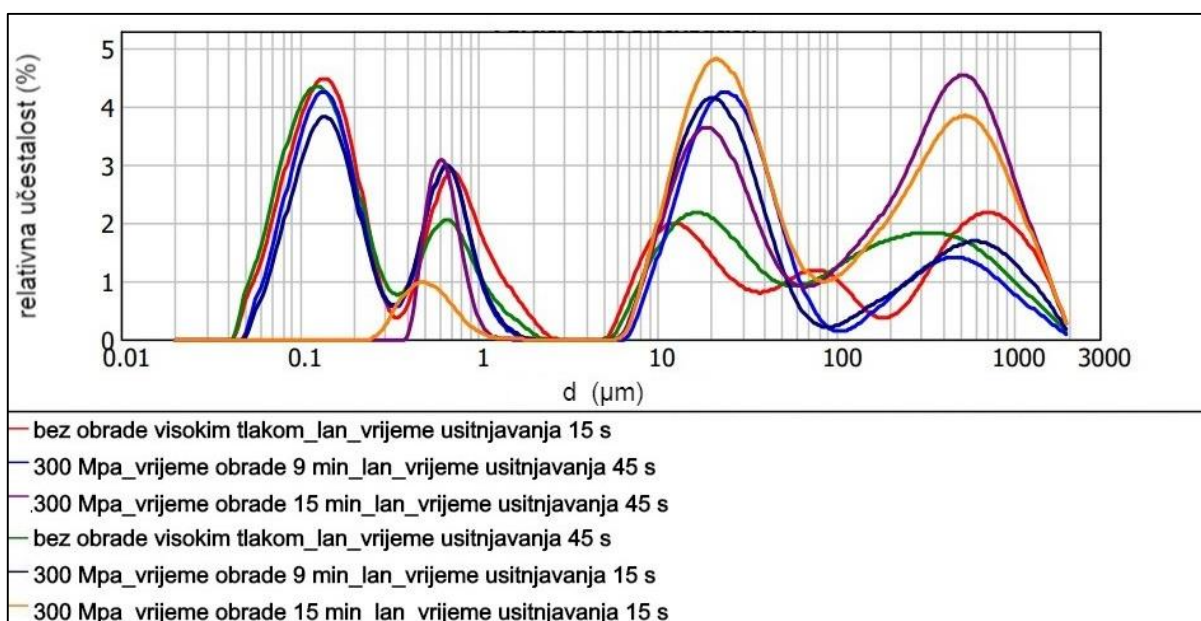
Promatrajući Sliku 20 vidljivo je iz raspodjele veća relativna učestalost čestica većeg promjera u oba promatrana intervala $0,01 - 2 \mu\text{m}$ i $7 - 2500 \mu\text{m}$ dobivenih nakon 45 sekundi usitnjavanja indijskog oraščića. Ovakva raspodjela vjerojatno je posljedica dugotrajnog smičnog naprezanja i posljedično izdvajanja masne faze (maslac) koja je dovela do nakupljanja velikog broja sitnih čestica. Ovakav tip raspodjele ukazuje na veću stabilnost uzoraka obrađenih nižim tlakovima, ali sa nešto duljim vremenom obrade. Ovakvim načinom obrade postiže se željeni ishod stabilnosti uzoraka sa prihvatljivim naprezanjima materijala (visokotlačni cilindar) tijekom procesa obrade visokim hidrostatskim tlakom. Promatrajući dobiveni trend za očekivati je postizanje željene stabilnosti pri vrijednostima tlakova do 150 MPa što može biti predmet nekih budućih istraživanja.



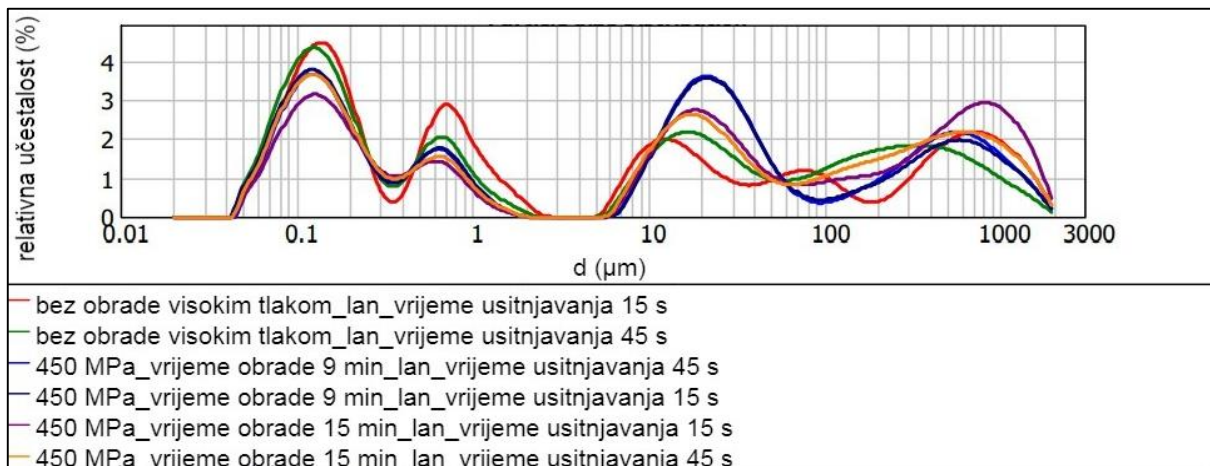
Slika 21. Ovisnost relativne učestalosti o promjeru čestica uzoraka smoothieja s dodatkom ulja konoplje, obradom pri vrijednostima tlaka 300 MPa i vremenu obrade od 9 i 15 min te bez obrade tlakom, vremenom usitnjavanja indijskih oraščića 15 i 45 s



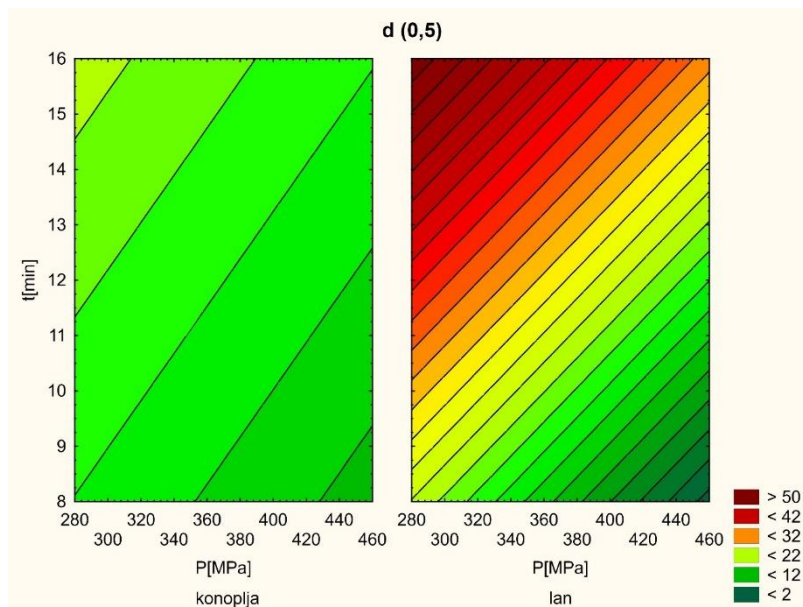
Slika 22. Ovisnost relativne učestalosti o promjeru čestica uzoraka smoothieja s dodatkom ulja konoplje, obradom pri vrijednostima tlaka 450 MPa i vremenu obrade od 9 i 15 min te bez obrade tlakom, vremenom usitnjavanja indijskih oraščića 15 i 45 s



Slika 23. Ovisnost relativne učestalosti o promjeru čestica uzoraka smoothieja s dodatkom ulja lana, obradom pri vrijednostima tlaka 300 MPa i vremenu obrade od 9 i 15 min te bez obrade tlakom, vremenom usitnjavanja indijskih oraščića 15 i 45 s



Slika 24. Ovisnost relativne učestalosti o promjeru čestica uzoraka smoothieja s dodatkom ulja lana, obradom pri vrijednostima tlaka 450 MPa i vremenu obrade od 9 i 15 min te bez obrade tlakom, vremenom usitnjavanja indijskih orašića 15 i 45 s



Slika 25. 2D – dijagram utjecaja tlaka ($p = 300, 450$ MPa) i vremena obrade ($t = 9, 15$ min) na vrijednosti medijana $d(0,5)$ kategorizirano prema vrsti ulja

Uspoređujući multimodalnost frekvencijskih krivulja uzoraka smoothieja s uljem konoplje nakon obrade vidljivo je da se povećanje relativne učestalosti čestica u intervalu od $9 - 2511 \mu\text{m}$ pri tlaku od 300 MPa što rezultira stabilnijim uzorcima (Slika 21). Manje oscilacije u raspodjeli veličine čestica oba intervala vidljive su kod uzoraka obrađenim pri 450 MPa (Slika 22). Iz dobivenih krivulja raspodjele uzoraka smoothieja sa uljem lana teško je izolirati interval raspodjele koji ukazuje na dinamiku raspodjele svih promatranih čestica (Slike 23 i 24). Iz tog

razloga, napravljena je ANOVA analiza medijana oznake d (0,5) (Slika 25) iz koje se vidi postojanost intervala medijana između 9 – 20 μm smoothieja s uljem konoplje pri svim procesnim parametrima. Veća neravnomjernost raspodjele veličine čestica uzoraka sa uljem lana vidljiva je u nešto širem intervalu raspodjele medijana i kreće se od 13 – 65 μm što ukazuje na velike fluktuacije u raspodjeli intervala sva četiri pika (vrijednost moda na frekvencijskoj krivulji) i potencijalnu nestabilnost.

5. ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata i provedene rasprave, mogu se donijeti ovi zaključci:

1. Statistički značajan utjecaj na vrijednosti apsorbancije (A_{720}) imaju vrsta dodanog ulja, primijenjeni tlak i vrijeme obrade.
2. Ulje konoplje pokazalo se kao sekundarna disperzna faza koja dovodi do najizraženije promjene svih promatranih fizikalnih svojstava osim prividne viskoznosti.
3. Čestice većeg stupnja usitnjenosti dovode do efekta povećanja prividne viskoznosti pri duljem vremenu obrade. Povećanjem brzine smicanja dolazi do smanjenja prividne viskoznosti. Najveći prag osjetljivosti kojim se postiže i veća točnost mjerenja događa se pri nižim smičnim brzinama.
4. Smoothieji s dodanim uljem konoplje i većim stupnjem usitnjavanja indijskog oraščića pokazuju trend povećanja stabilnost do 260 sati. Uspoređujući dobivene vrijednosti s uzorcima bez ulja (31 sat) možemo reći da i ulje lana vodi do značajne stabilnosti (93 sata).
5. Veća stabilnost smoothieja s uljem konoplje rezultat je ukupne raspodjele veličine svih prisutnih čestica s najizraženijom učestalošću od 9 – 2511 μm . Izostanak čestica u intervalu od 3 – 9 μm pokazatelj je djelomične homogenosti sustava kod obje vrste uzorka. Raspodjela čestica od 0,05 – 3 μm jednako doprinosi stabilnosti (nestabilnosti) oba sustava.
6. Manja stabilnost smoothieja s uljem lana posljedica je šireg intervala medijana ($d [0,5]$) koji je posljedica multimodalnosti krivulje, tj. pokazatelja veće nestabilnosti svih prisutnih čestica.
7. Optimalni procesni parametri kojima se postiže najveća stabilnost smoothieja su 300 MPa i 9 minuta obrade pri oba stupnja (vremena) usitnjavanja obzirom na njihovu graničnu statističku značajnost.

6. POPIS LITERATURE

- Augusto, P. E. D., Tribst, A. A. L., Christianini, M. (2018) High hydrostatic pressure and high-pressure processing of fruit juices. U: *Fruit juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis*, 1.izd., Rajauria, G., Tiwari, B. K., ur., Academic Press. str. 393 – 423.
- Bosiljkov, T. (2011) Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na stupanj homogenizacije i fizikalna svojstva sojinog, kravljeg, ovčjeg i kozjeg mlijeka, Doktorski rad, Prehrambeno – biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu
- Bosiljkov, T., Kurtoić, D., Karlović, S., Brnčić, M., Dujmić, F., Marelja, M., Škegro, M., Ježek, D. (2018) Utjecaj ultrazvuka i visokog hidrostatskog tlaka na fizikalna svojstva sojinog mlijeka kao baze za pripremu napitaka. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition* **13** (3-4): 128-135.
- Bosiljkov, T., Tripalo, B., Ježek, D., Brnčić, M., Karlović, S. (2010) Princip rada i primjena visokih tlakova u prehrambenoj industriji. *Kemija u Industriji* **59** (11): 539 – 545.
- Bosiljkov, T. (2011) Doctoral Thesis, Influence of high in-tensity ultrasound on degree of homogenization and physical properties of soybean, cow, sheep and goat milk, University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology, Zagreb.
- Božanić, R. (2006) Proizvodnja, svojstva i fermentacija sojinog mlijeka. *Mljekarstvo* **56** (3): 233 – 254.
- Boyer, J., Liu, R. (2004) Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutr. J.* **3**: 5.
- Bull, M. K., Zerdin, K., Goicoechea, D., Paramanandhan, P., Stockman, R., Stewart, C. M. (2004) The effect of high pressure processing on the microbial, physical and chemical properties of Valencia and Navel orange juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **5** (2): 135 – 149.
- da Cruz, A. G., Fonseca Faria, J.D.A., Isay Saad, S.M., André Bolini, H.M., Sant' Ana, A.S., Cristianini, M. (2010) High pressure processing and pulsed electric fields: Potential use in probiotic dairy foods processing. *Trends Food Sci. Tech.* **21**: 483 – 493.
- Dalgleish, D. G. (2004) Food Emulsions: Their Structures and Properties. U: *Food Emulsions: Fourth Edition, Revised and Expanded*, 4. izd., Friberg, S. E., Larsson, K., Sjöblom, J., ur., Marcel Dekker, Inc. str. 17 – 21.
- Dziki, D., Gładyszewska, B., Różyło, R., Polak, R., Rudy, S., Krzykowski, A. (2012) The size reduction theories of solid foods. *Teka Commission of Motorization and Energetics in Agriculture* **12** (2): 41 – 45.

- Earle, R.L., Earl, M.D. (1983) Unit operations in food processing, 2.izd, NZIFST Inc. str. 153 – 165.
- Elamin, W. M., Endan, J. B., Yosuf, Y. A., Shamsudin, R., Ahmedov, A. (2015) High pressure processing technology and equipment evolution. *J. Eng. Sci. Technol.* **85** (5): 75 – 83.
- Fandino-Lopez, R. (2006) High pressure-induced changes in milk proteins and possible applications in dairy technology. *International Dairy Journal* **16**: 1119 – 1131.
- Gerhauser, C. (2008) Cancer Chemopreventive Potential of Apples, Apple Juice, and Apple Components. *Planta Med* **74**: 1608 – 1624.
- Huppertz, T., Smiddy, M.A., Upadhyay, V.K., Kelly, A.L. (2006) High-pressure-induced changes in bovine milk: a review. *International Journal of Dairy Technology* **59** (2): 58 – 66.
- Jeličić, I., Lisac, K., Božanić, R. (2012) Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka, ultrazvuka i pulsirajućeg električnog polja na sastojke i svojstva mlijeka. *Mljekarstvo* **62** (1): 3 – 13.
- Karlović, S., Bosiljkov, T., Dujmić, F., Brnčić, M., Škegro, M., Ježek, D. (2019) Visoki hidrostatski tlak i hidrotermalne tehnologije u obradi otpada prehrambene industrije. U: Neke mogućnosti iskorištenja nusproizvoda prehrambene industrije – Knjiga 2., 1. izd., Šubarić, D., Babić, J., ur., Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek- str. 163 – 177.
- Keck, C.M., Müller, R.H. (2008) Size Analysis of Submicron Particles by Laser Diffraction - 90% of the Published Measurements Are False. *Int. J. Pharm.*, **355** (1-2): 150 – 63.
- Keenan, D. F., Brunton, N., Gormley, R., Butler, F. (2011) Effects of Thermal and High Hydrostatic Pressure Processing and Storage on the Content of Polyphenols and Some Quality Attributes of Fruit Smoothies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **59**: 601–607.
- Knorr, D. (1999) Process assessment of high-pressure processing of foods: an overview. U: Processing Foods: Quality Optimization and Process Assessment, 1.izd., Oliveira, F. A. R., Oliveira, J. C., Hendrickx, M. E., Knorr, D., Gorris, L., ur., Boca Raton: CRC Press. str. 249 – 267.
- Koutchma T. (2014) Adapting High Hydrostatic Pressure (HPP) for Food Processing Operations, 1. izd., Academic Press. str. 19 – 21, 67 – 69.
- Lelas, V. (2006) Nove tehnike procesiranja hrane. *Mljekarstvo* **56** (4): 311 – 330.
- Lovrić, T. (2003) Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva, 1.izd., Hinus. str. 271 – 274.

- Maleš, Ž., De Lai, E. (2019) Biljne vrste u zdravoj prehrani. *Farmaceutski glasnik* **75** (2): 115 – 133.
- Martinez-Monteaquedo, S. I., Saldana, M. D. A. (2014) Chemical reactions in food system at high hydrostatic pressure. *Food Enf. Rev.* **6**: 105 – 127.
- Martino, M. N., Otero, L., Sanz, P. D., Zaritzky, N. E. (1998) Size and location of ice crystals in pork frozen by high-pressure-assisted freezing as compared to classical methods. *Meat Sci.* **50**: 303.
- McClements, D. J. (2004) Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques, Second Edition, 2. izd., CRC Press. str. 20 – 22.
- McKay, A. M., Linton, M., Stirling, J., Mackle, A., Patterson, M. F. (2011) A comparative study of changes in the microbiota of apple juice treated by high hydrostatic pressure (HHP) or high pressure homogenisation (HPH). *Food Microbiol.* **28**: 1426 – 1431.
- Moermann, F. (2005) High hydrostatic pressure inactivation of vegetative microorganisms, aerobic and anaerobic spores in pork Marengo, a low acidic particulate food product. *Meat Sci.* **69**: 225.
- Patterson, M. F., Linton, M., Doona, C. J. (2007) Introduction to High Pressure Processing of Foods. U: High Pressure Processing of Foods, 1.izd., Doona, C. J., Feeherry, F. E., ur., Blackwell Publishing and the Institute of Food Technologists. str. 1 – 14.
- Picouet, P. A., Hurtado, A., Jofré, A., Bañon, S., Ros, J.-M., Guàrdia, M. D. (2016) Effects of Thermal and High-pressure Treatments on the Microbiological, Nutritional and Sensory Quality of a Multi-fruit Smoothie. *Food and Bioprocess Technology* **9** (7): 1219 – 1232.
- Robins, M. M. (2006) Particle size analysis in food. U: Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation, 1.izd., Meyers, R. A., ur., John Wiley & Sons. str. 4130 – 4153.
- Senila, L., Neag, E., Cadar, O., Kovacs, M. H., Becze, A., Senila, M. (2020) Chemical, Nutritional and Antioxidant Characteristics of Different Food Seeds. *Applied Sciences*, **10** (5): 1589.
- Smith, V., Green-Petersen, D., Møgelvang-Hansen, P., Bojesen Christensen, R. H., Qvistgaard, F., Hyldig, G. (2013) What's (in) a real smoothie. A division of linguistic labour in consumers' acceptance of name-product combinations?. *Appetite* **63**: 129 – 140.
- Šimetić, S. (2008) Lan u proizvodnji i upotrebi. *Sjemenarstvo* **25**: 217 – 220.

- Škevin, D., Kalodera, Z., Kristek, A., Žuntar, I., Katalenić, M. (2011) Znanstveno mišljenje o utjecaju na zdravlje proizvoda od konoplje koji se konzumiraju (ulje, sjemenke) – Hrvatska agencija za hranu, <https://www.hah.hr/pregled-upisnika/?preuzmi_misljenje=17> Pristupljeno 23. srpnja 2020.
- Van den Berg, R., Hoogland, H., Lelieveld, H. L. M., Schepdael L. V. (2001) High pressure equipment designs for food processing applications. U: Ultra high pressure treatments of foods, 1.izd., Hendrickx, M. E. G., Knorr D., ur., Kluwer Academic/Plenum Publishers. str. 297 – 313.
- Vujasinović, V., Dimić, E., Arnaut, M. (2012) Hempseed and hempseed oil – nutriment and medicament. *Journal of Edible Oil Industry* **43**: 43 – 53.
- Zhao, Y., Flores, R. A., Olson, D. G. (1998) High hydrostatic pressure effects on rapid thawing of frozen beef. *Journal of Food Science* **63**: 272 – 275.

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Jelena Kaurinović

Jelena Kaurinović