

Utjecaj netoplinskih tehnologija na fizikalna i mikrobiološka svojstva smoothieja kao alternativa konvencionalnom postupku obrade

Jambrović, Ema

Master's thesis / Diplomski 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:159:014688>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-05**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

PREHRAMBENO – BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, prosinac 2020.

Ema Jambrović

1293/USH

**UTJECAJ NETOPLINSKIH
TEHNOLOGIJA NA FIZIKALNA I
MIKROBIOLOŠKA SVOJSTVA
SMOOTHIEJA KAO
ALTERNATIVA
KONVENCIONALNOM
POSTUPKU OBRADU**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnološke operacije Zavoda za procesno inženjerstvo Prehrambeno – biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Tomislava Bosiljkova.

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).

Zahvaljujem se svom mentoru izv. prof. dr. sc. Tomislavu Bosiljkovu na velikoj pomoći, susretljivost, ugodnoj radnoj atmosferi i svim stručnim savjetima koji su doprinijeli izradi ovog diplomskog rada.

Isto tako, hvala svim djelatnicima Laboratorija za tehnološke operacije na pomoći i strpljenju prilikom izvođenja eksperimentalnog dijela diplomskog rada.

Također, zahvaljujem se djelatnicima Laboratorija za opću mikrobiologiju i mikrobiologiju namirnica, posebice Ivi Čanak, mag. ing., na uloženom trudu i pomoći.

Veliko hvala mojoj obitelji na bezuvjetnoj podršci, ogromnom strpljenju i ljubavi koje su mi pružali tijekom cijelog mog studiranja. Na kraju, želim se zahvaliti svim svojim prijateljima koji su bili tu uz mene i omogućili mi nezaboravne studentske dane.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno – biotehnološki fakultet

Zavod za procesno inženjerstvo

Laboratorij za tehnološke operacije

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

UTJECAJ NETOPLINSKIH TEHNOLOGIJA NA FIZIKALNA I MIKROBIOLOŠKA SVOJSTVA SMOOTHIEJA KAO ALTERNATIVA KONVENCIONALNOM POSTUPKU OBRADE

EMA JAMBROVIĆ, 1293/USH

Sažetak: Konzumacija smoothieja porasla je u posljednje vrijeme jer je sve više znanstvene literature na temu nutritivno vrijednog prehrambenog proizvoda. Cilj ovog diplomskog rada je ispitati utjecaj netoplinskih tehnologija ultrazvuka visokog intenziteta i visokog hidrostatskog tlaka na fizikalna (apsorbancija, boja, gustoća, viskoznost i pH) i mikrobiološka svojstva smoothieja (jabuka, mrkva i cikla) s dodatkom sezamovog ulja. Radi usporedbe učinkovitosti, proveden je i toplinski postupak pasterizacije (85 °C/5 '). Temelj ovog rada je praćenje utjecaja ultrazvuka visokog intenziteta na smoothie pri vrijednostima amplituda 60 i 100 %, u periodima od 2, 6 i 10 minuta i promjerima sonde od 6 i 10 mm, kao i praćenje utjecaja obrade visokim hidrostatskim tlakom pri tlakovima od 150, 300 i 450 MPa u periodima od 3, 9 i 15 minuta. Kod obrade ultrazvukom najveći utjecaj na promjenu fizikalnih svojstava ima promjer sonde, dok kod visokog hidrostatskog tlaka je to vrijeme obrade. Obrada visokim hidrostatskim tlakom pokazala je bolji utjecaj na inaktivaciju mikroorganizama od ultrazvuka. Netoplinskim tehnologijama dobivene su znatno bolje vrijednosti apsorbancije u odnosu na toplinsku obradu, pasterizaciju.

Ključne riječi: *ultrazvuk visokog intenziteta, visoki hidrostatski tlak, pasterizacija, smoothie, fizikalna svojstva, mikrobiološka svojstva*

Rad sadrži: 58 stranica, 31 slika, 11 tablica, 61 literaturnih navoda

Jezik izvornika: Hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno–biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

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

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. Doc. dr. sc. *Sven Karlović*
2. Izv. prof. dr. sc. *Tomislav Bosiljkov*
3. Izv. prof. dr. sc. *Danijela Bursać Kovačević*
4. Prof. dr. sc. *Jadranka Frece* (zamjena)

Datum obrane: 17. prosinca 2020.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Process Engineering
Laboratory for Unit Operations

Scientific area: Biotechnological sciences

Scientific field: Food Technology

THE EFFECT OF NONTHERMAL TECHNOLOGIES ON PHYSICAL AND MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF SMOOTHIE AS AN ALTERNATIVE TO CONVENTIONAL PROCESSING PROCEDURE

Ema Jambrović, 1293/USH

Abstract: The consumption of smoothies has increased substantially since scientific literature reported its nutritional value. This thesis aimed to examine the impact of non-thermal technologies, high-intensity ultrasound, and high-hydrostatic pressure on physical properties (absorbance, color, density, viscosity, and pH) and microbiological characteristic of smoothies (apple, carrot & beetroot) with the addition of sesame oil. To compare the efficiency, a thermal pasteurization process (85 °C/5 ‘) was performed. The influence of the high-intensity ultrasound was observed under the following conditions: amplitude 60 and 100 %, time of treatment 2, 6 and 10 minutes, probe diameter 6 and 10 mm, while the influence of the high-hydrostatic pressure was observed under the pressure of 150, 300 and 450 MPa, processing time 3, 9 and 15 minutes. During ultrasound treatments, the biggest impact on the physical properties of the smoothie has a probe diameter, while in high-hydrostatic pressure treatments this is the processing time. Regarding microbiological properties, high-hydrostatic pressure has shown a better influence on the inactivation of microorganisms than ultrasound. Nonthermal technologies have obtained much better absorbance values compared to heat treatment, pasteurization.

Keywords: *high intensity ultrasound, high hydrostatic pressure, pasteurization, smoothie, physical properties, microbiological properties*

Thesis contains: 58 pages, 31 figures, 11 tables, 61 references

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: Phd *Tomislav Bosiljkov*, Associate professor

Reviewers:

1. Phd. *Sven Karlović*, Assistant professor
2. Phd. *Tomislav Bosiljkov*, Associate professor
3. Phd. *Danijela Bursać Kovačević*, Associate professor
4. Phd. *Jadranka Frece*, Full professor (substitute)

Thesis defended: 17 December 2020

Sadržaj

1	UVOD	1
2	TEORIJSKI DIO	2
2.1	SMOOTHIE	2
2.2	ULTRAZVUK	4
2.2.1	Osnovni parametri ultrazvuka i nastajanje ultrazvuka	4
2.2.2	Utjecaj ultrazvuka na tekući medij	7
2.2.3	Primjena ultrazvuka u prehrambenoj industriji	8
2.3	VISOKI HIDROSTATSKI TLAK	9
2.3.1	Princip djelovanja visokog hidrostatskog tlaka	10
2.3.2	Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka na sastav smoothieja	13
2.3.3	Primjena visokog hidrostatskog tlaka u prehrambenoj industriji	14
2.4	PASTERIZACIJA	14
2.4.1	Princip djelovanja	15
3	EKSPERIMENTALNI DIO	17
3.1	MATERIJALI	17
3.2	METODE RADA	17
3.2.1	Priprema smoothieja	17
3.2.2	Obrada smoothieja ultrazvukom	18
3.2.3	Obrada smoothieja visokim hidrostatskim tlakom	19
3.2.4	Pasterizacija	20
3.2.5	Određivanje apsorbancije i boje	21
3.2.6	Određivanje viskoznosti	23
3.2.7	Određivanje gustoće	23
3.2.8	Određivanje pH vrijednosti	24
3.2.9	Praćenje mikrobiološke kvalitete smoothieja	25
3.2.10	Statistička obrada rezultata	26
4	REZULTATI I RASPRAVA	27
5	ZAKLJUČCI	52
6	LITERATURA	53

1 UVOD

Danas potrošači postavljaju sve veće zahtjeve prehrambenoj industriji. Tako se od prehrambene industrije zahtijeva bolja kvaliteta i sigurnost proizvoda s dobrim prehrambenim karakteristikama što sličnijim njihovim svježim ekvivalentima. Uz to sve popularniji postaju proizvodi poput smoothieja, koji se vrlo brzo mogu pripremiti, što odgovara današnjim standardima ubrzanog života, a uz to nude i izvrsne nutritivne vrijednosti. Osim sastava prehrambenih proizvoda, ljudi sve više prate i procese kojima se prehrambeni proizvodi podvrgavaju. Kako bi se zadovoljile sve navedene potrebe potrošača, uvode se nove, manje agresivne tehnologije kako bi se što više očuvali senzorski i nutritivni sastojci hrane. Takve tehnologije poznate su pod nazivom netoplinske tehnologije, upravo iz razloga što temperatura tijekom obrade ostaje skoro pa nepromijenjena, što igra glavnu ulogu u očuvanju nutritivne i senzorske kvalitete prehrambenog proizvoda.

Ultrazvuk visokog intenziteta i visoki hidrostatski tlak su svakako najperspektivnije netoplinske tehnologije, koje se sve više razvijaju i koriste kao alternativa tradicionalnim toplinskim metodama u konzerviranju hrane. Ovim metodama osiguravaju se minimalne promjene nutritivnih i senzorskih svojstva proizvoda, što se postiže iznimno kratkim vremenskim periodom obrade i neznatnim povišenjem temperature.

Budući da je riječ o smoothieju koji je pogodan za brzi rast i razvoj nepoželjnih mikroorganizama, konzerviranje ultrazvukom i visokim hidrostatskim tlakom produžuje rok trajanja, te tako osigurava određenu mikrobiološku kvalitetu.

U ovom diplomskom radu provela se analiza utjecaja netoplinskih tehnologija na fizikalna i mikrobiološka svojstva smoothieja. Cilj ovog rada jest ispitati utjecaj visokog hidrostatskog tlaka i ultrazvuka visokog intenziteta na promjene fizikalnih svojstva smoothieja uz minimalne promjene nutritivnih i senzorskih karakteristika te s mikrobiološkog aspekta postići stabilnost proizvoda kroz duži vremenski period. Glavni sastojci smoothieja su jabuke, mrkva i cikla, dok je u pojedine uzorke dodano i sezamovo ulje kako bi se postigla veća stabilnost višekomponentnog proizvoda.

2 TEORIJSKI DIO

2.1 SMOOTHIE

Smoothie je piće koje se prvi put pojavilo ranih šezdesetih godina prošlog stoljeća. Tijekom idućih nekoliko desetljeća koncept smoothieja se unaprijeđivao, sve dok početkom 2000.-ih nije postignut vrhunac popularnosti, koji se očuvao i dan danas (Walkling – Riberio i sur., 2010). Smoothie ili kako ga nutricionisti definiraju „tekući obrok“ jest bezalkoholno piće polutekuće strukture. Smoothie, ukoliko je pravilno pripremljen, može biti bogat izvor vitamina, mineralnih tvari, prehrambenih vlakana i antioksidansa, čiji se unos povezuje s pozitivnim učinkom na ljudsko zdravlje (Ilić, 2019). Najčešća priprema smoothieja je od različitih vrsta svježeg ili smrznutog voća i povrća, koji čine osnovu osvježavajućeg napitka, dok se kao dodaci mogu koristiti razni voćni sokovi, jogurti, mlijeka, med, orašasti plodovi, sladoled ili led. Danas je vrlo popularna izrada smoothieja u domaćinstvu, no također se mogu kupiti i kao svježi ili pasteurizirani proizvodi u trgovinama (Keenan, 2010). Iako su bogati raznim nutrijentima, zbog svog kratkog roka trajanja koji se pripisuje mikrobnom i enzimatskom kvarenju, koriste se tradicionalne metode konzerviranja pri čemu dolazi do gubitka prirodnog okusa i hranjivih tvari. Upravo iz tog razloga potreban je razvoj i uvođenje netoplinskih tehnologija koje mogu očuvati značajan dio hranjivih tvari u usporedbi s konvencionalnim metodama te paralelno osigurati mikrobiološku kvalitetu i stabilnost. Među netoplinskim tehnologijama koje se najviše ističu u obradi smoothieja su visoki hidrostatski tlak i ultrazvuk visokog intenziteta. Navedene tehnologije omogućuju produljeni rok trajanja proizvoda, zbog mikrobne i enzimatske inaktivacije, uz očuvanje bioaktivnih spojeva i općenito kvalitete proizvoda (Fernandez i sur., 2019).

Voće i povrće čine esencijalni dio ljudske prehrane, budući da sadržava prirodno prisutne antioksidanse i polifenole koji služe kao zaštita ljudskog organizma od raznih oštećenja koja mogu biti uzrokovana reaktivnim spojevima, slobodnim radikalima (Bursać Kovačević i sur., 2020). Od toga najznačajniji antioksidansi su askorbinska kiselina (vitamin C), tokoferoli i tokotrioli (vitamin E), karetonoidi (provitamin A), te fenolni spojevi poput flavona, izoflavona, flavanona, antocijana i flavonola. Polifenolne spojeve karakterizira aromatska struktura, s jednom ili više hidroksilnih skupina koje su podložne djelovanju fizikalnih i kemijskih promjena (Alvarez i sur., 2016).

U proizvodnji smoothieja najčešće se kao baza koristi voće koje obiluje prehrambenim vlaknima i vitaminima, kao što su jabuke, banane, naranče, a uz to je vrlo popularno i crveno

bobičasto voće koje dodatno privlači potrošače zbog svojih nutritivnih vrijednosti. Također se može koristiti i povrće, poput mrkve, cikle, špinata ili brokule kako bi se dodatno povisila hranjiva i senzorska vrijednost proizvoda, budući da je povrće bogat izvor fitonutrijenata (Ilić, 2019). Kao baza kod pripreme povrtnog smoothieja u ovom radu koristile su se mrkva, cikla i jabuka, dok se u pojedine uzorke također dodavala i mala količina sezamovog ulja.

Jabuka (*Malus domestica* Bork.) pripada porodici *Rosaceae* i smatra se jednim od najrasprostranjenijih voća, pri čemu je poznato čak oko 10 000 različitih sorata, koje se razlikuju po vremenu dozrijevanja ploda, boji ploda, okusu, veličini ploda, te otpornosti prema bolestima i sl.. Sorta „Zlatni Delišes“ sazrijeva u prvoj polovici listopada i ubraja se u slađe jabuke, a isto se tako ubraja u desertnu sortu jabuka i vrlo je cijenjena na tržištu. Karakterizira ju zelenkasta boja pokožice, koja kasnije prilikom čuvanja može poprimiti izrazito zlatnožutu boju. Meso ploda je čvrsto, sočno, žućkasto i jako izraženog okusa, te ugodnog mirisa (Putnik i sur., 2017).

Mrkva (*Daucus carota* L.) je dvogodišnja biljka koja pripada porodici štitarki (*Umbelliferae*), a značajna je zbog bogatog nutritivnog sastava, gdje se ponajviše ističu vitamini, minerali i vlakna. Od minerala u svježoj mrkvi najviše su zastupljeni kalij, kalcij, željezo, fosfor i jod, dok je od vitamina najzastupljeniji β – karoten, vitamini B kompleksa (folna kiselina, biotin, tiamin, riboflavin, niacin), vitamin C, vitamin E i vitamin K u nešto manjoj koncentraciji. Kod mrkve su najznačajniji karotenoidi, odnosno pigmenti netopljivi u vodi i staničnom soku, koji se nalaze u svim dijelovima biljke. Osim karotenoida, prisutni su i karoteni, tj. ugljikovodici koje imaju provitaminska svojstva (Levaj, 2018).

Cikla (*Beta vulgaris* L.) je gomoljasto povrće koje se danas uzgaja u prehrambene svrhe, no sve popularniji postaje i uzgoj u medicinske svrhe, budući da ima brojne pozitivne zdravstvene učinke. S vrlo visokim udjelom polifenola i betalaina, tj. dušičnih pigmenata topljivih u vodi, cikla se smatra jednim od najbogatijih povrća s najvećim antioksidacijskim kapacitetom (Komes i Šeremet, 2019). Cikla koja je poznata po svojoj zagasito crveno – ljubičastoj boji, bogat je izvor crvenih i žutih pigmenata koji pripadaju razredu betalaina. Glavninu čine betacijanini, crveni pigmenti, od kojih betanin čini 75 – 95 % i njegov izomer izobetanin, dok su u nešto manjem udjelu također prisutni i betaksantini, žuti pigmenti (Komes i Šeremet, 2019).

Sezamovo ulje je jestivo biljno ulje koje tek traži svoj put prema popularnosti, budući da u svjetskoj trgovini prevladavaju samo sjemenke sezama. Proizvodi od sezama sadrže visoke

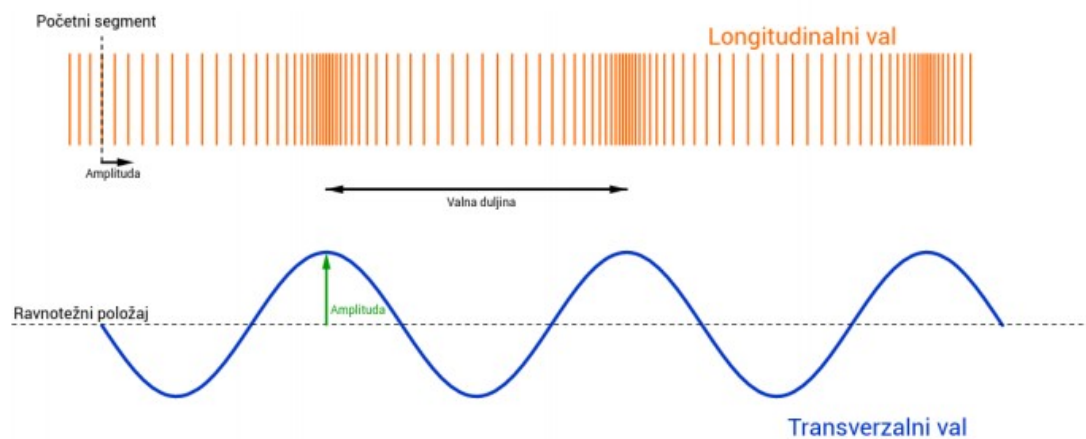
razine aminokiselina metionina i cisteina, te ih karakterizira ugodan okus. Danas su poznate dvije vrste antioksidanasa izoliranih iz sjemenka sezama, a razlikuju se po topljivosti. Antioksidansi topljivi u mastima su tokoferoli, sezaminol, sezamolinol i pinoresinol (Moslavac i sur., 2019). Vrlo dobru stabilnost sezamovom ulju, daju upravo endogeni fenolni antioksidansi sezamin i sezamolin, koji nisu prisutni u drugim biljnim uljima. Samim time ulje karakterizira i otpornost prema oksidacijskom kvarenju zbog dobrog sastava masnih kiselina i visokog udjela prirodnih antioksidanasa u uljnoj smjesi koji pridonose stabilnosti ulja (Moslavac i sur., 2013).

2.2 ULTRAZVUK

Ultrazvuk visokog intenziteta već se duži niz godina koristi u kemijskoj industriji, a u posljednje vrijeme sve više i u prehrambenoj industriji zbog svog širokog spektra primjene (Ojha i sur., 2017). Primjena ultrazvuka moguća je u gotovo svim granama prehrambene tehnologije i biotehnologije, od filtracije, sušenja, sterilizacije, emulgiranja, homogenizacije, ekstrakcije, kristalizacije pa sve do inaktivacije mikroorganizama. Ultrazvuk visokog intenziteta karakterizira obrada materijala na sobnoj temperaturi ili uz neznatno povišenje temperature, koje se javlja kao posljedica obrade (Pingret i sur., 2013). Prilikom obrade hrane koriste se frekvencije ultrazvuka 20 – 100 kHz (Kentish i Feng, 2014). Cilj korištenja ove netoplinske tehnologije je dobiti proizvod visoke mikrobiološke kakvoće, tj. postići inaktivaciju enzima i mikroorganizama kako bi se postigla što dulja trajnost, ali i paralelno očuvala svježina proizvoda (Pingret i sur., 2013).

2.2.1 Osnovni parametri ultrazvuka i nastajanje ultrazvuka

Princip djelovanja ultrazvuka visokog intenziteta temelji se na prijenosu ultrazvučnog vala kroz materijal (krutinu, plin ili tekući medij) koji ima elastična svojstva. Zvučni val se može širiti na dva načina: transverzalno i longitudinalno (Slika 1). Ako je titranje čestica okomito na smjer širenja vala, riječ je o transverzalnom valu, dok longitudinalni val karakterizira titranje čestica u smjeru širenja vala. Energija se kroz medij transportira od čestice do čestice. Samo širenje vala karakterizira prijenos vibracija preko molekula koje se nalaze u mediju, gdje svaka čestica prenosi gibanje na sljedeću česticu prije povratka u prvobitno stanje (Gallo i sur., 2018).



Slika 1. Širenje longitudinalnog i transverznog vala (Geogebra, 2020)

Glavni ultrazvučni parametri koji određuju karakteristike vala su frekvencija, (f), amplituda (A), valna duljina (λ), koeficijent prigušenja (a) i brzina vala (v).

Frekvencijom (f) se izražava broj ciklusa vala koji se ponavljaju u jednoj sekundi, gdje frekvencija određuje visinu pojedinog zvučnog vala. Obrnuto je proporcionalna periodu (T) koji se može definirati kao veličina kojom se iskazuje trajanje jednog ciklusa periodične promjene. Mjerna jedinica frekvencije je Hz (Hertz).

Amplituda (A) se izražava kao udaljenost između dviju točaka brijega i dola, tj. maksimuma i minimuma zvučnog vala. Predstavlja intenzitet vibracije koja se stvara kao posljedica širenja zvučnog vala. Iz toga slijedi, ako su vibracije u materijalu kroz koji se širi zvučni val veće, veća je i sama amplituda zvučnog vala (De Castro i Capote, 2007).

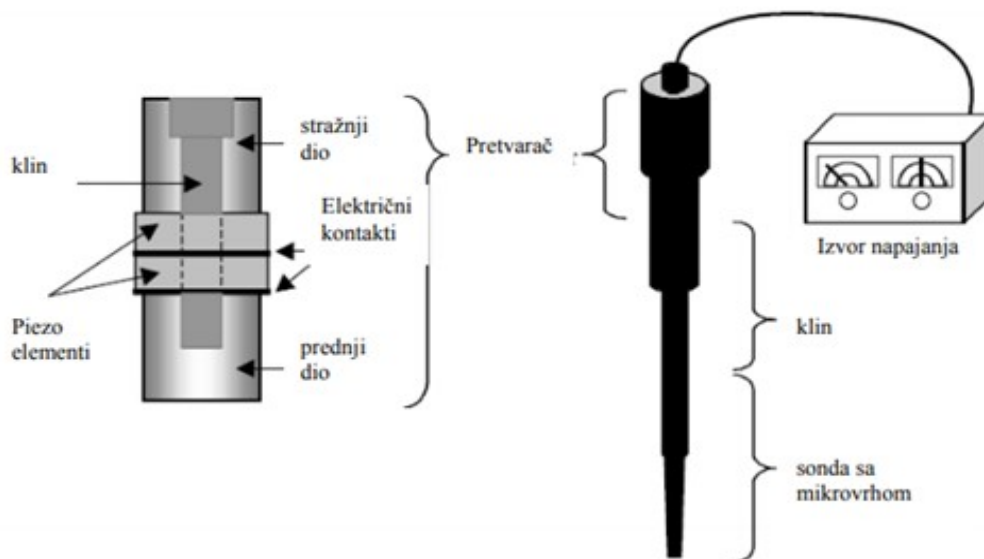
Valna duljina (λ) definira minimalnu udaljenost između dviju točaka koje titraju u istoj fazi uzastopnim ciklusima, pri čemu jedan ciklus zvučnog vala obuhvaća ciklus ekspanzije i ciklus kompresije, tj. dvije uzastopne promjene. Općenito, valna duljina je obrnuto proporcionalna frekvenciji, tj. što je valna duljina manja, frekvencija je veća (Chan i Perlas, 2011). Može se izračunati iz veličina brzine širenja zvuka i frekvencije definiranih preko izraza (1):

$$\lambda = \frac{v}{f} \text{ [m]} \quad [1]$$

Prilikom obrade ultrazvukom, dolazi do širenja ultrazvučnog vala, gdje se kao posljedica javlja promjena u temperaturi koja stvara mehaničko valno gibanje, dok osnovni parametri frekvencija, amplituda i ciklus ostaju konstantni kroz određeni vremenski interval. Promjena

temperature dovodi do zagrijavanja uzorka i ubrzanja kemijskih reakcije, a zbog povećanog gibanja molekula dolazi i do bržeg prijenosa mase (Bosiljkov i sur., 2018).

Kako bi nastao sam ultrazvučni val potrebne su dvije osnovne komponente: medij kojim se širi zvuk i izvor visokoenergetskih vibracija. Medij je tekući, zbog mogućnosti odvijanja i nastanka kavitacije, dok se kao izvor vibracije koristi pretvornik koji služi za pretvorbu mehaničke ili električne energije u zvuk visoke frekvencije (Mason i Lorimer, 2002). Najčešće korišteni tip pretvornika u ultrazvučnim uređajima je elektromehanički piezoelektrični pretvornik (Slika 2), u kojem električna snaga služi za stvaranje ultrazvučnih valova. Ukratko ultrazvučni sustav sastoji se od generatora i pretvornika. U generatoru se vrši pretvorba električne energije (50 – 60 Hz) u visoku frekvenciju izmjenične struje (> 20 kHz), nakon čega se u pretvorniku nastala visoka frekvencija izmjenične struje pretvara u mehaničke vibracije. Unutar električnog polja dolazi do uzajamnog privlačenja i polarizacije molekula preko dviju elektroda, što uzrokuje deformaciju piezoelektričnog materijala i fluktuacije u dimenzijama, uz to dolazi i do stvaranja električnog naboja na površini materijala. Nakon nastanka mehaničkih vibracija, zvučni valovi se dalje transmitiraju kroz pojačivač do sonde i u konačnici ih sonda prenosi na tretirani medij (Knorr i sur., 2004).

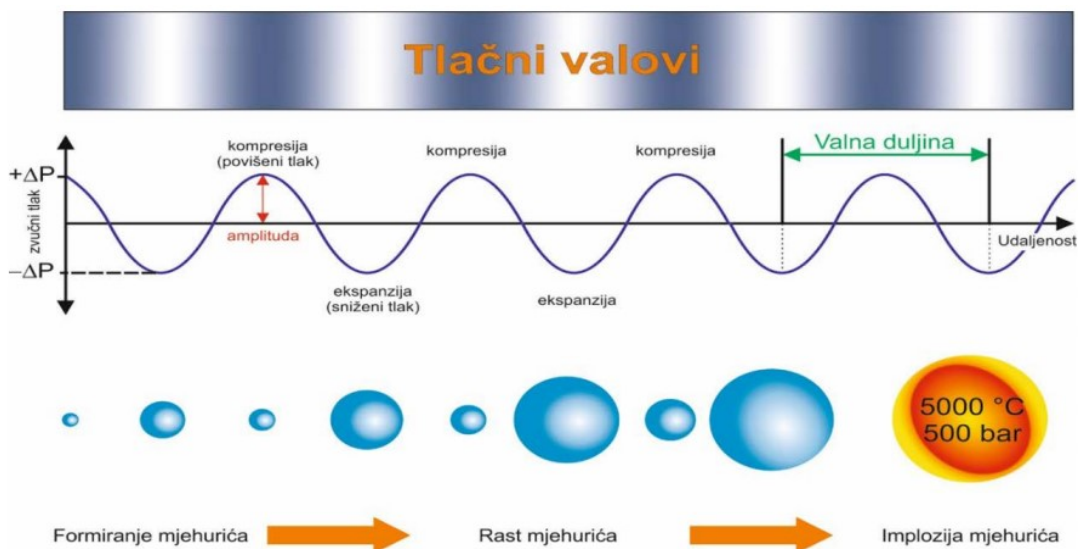


Slika 2. Ultrazvuk visokog intenziteta s elektromehaničkim piezoelektričnim pretvornikom (Mason, 1998)

2.2.2 Utjecaj ultrazvuka na tekući medij

Kod primjene ultrazvuka visokog intenziteta na tekući medij, dolazi do nastanka longitudinalnih valova, koje karakteriziraju ciklusi sažimanja i ekspanzije. Upravo takva naizmjenična izmjena tlakova dovodi do nastanka kavitacije, odnosno do formiranja mjehurića plina u mediju. Točnije, do formiranja mjehurića plina dolazi u slučaju dovoljno visokog intenziteta ultrazvuka u ekspanzijskom ciklusu, tj. pri dovoljno velikoj amplitudi ultrazvučnog vala (Gallo i sur., 2018).

Tijekom širenja ultrazvučnog tlačnog vala kroz tekući medij dolazi do stvaranja mjehurića plina zbog naizmjeničnog smanjenja i povećanja tlaka. Kada kavitacijski mjehurić postigne kritičnu veličinu, dolazi do implozije i istovremenog širenja energije u tekućem okolnom mediju (Slika 3). Snažna implozija kavitacijskih mjehurića uzrokuje trajnu fizikalno – kemijsku promjenu tekućeg medija (Pingret i sur., 2013).



Slika 3. Djelovanje ultrazvučnog vala i stvaranje kavitacije (Ježek i sur., 2019)

Svaka nastala implozija mjehurića djeluje kao lokalizirana „vruća točka“ što uzrokuje nastanak šok valova visokih temperatura i tlakova (preko 5000 K i 100 MPa). Kavitacija ima mikrobiocidni učinak koji uključuje razaranje nakupina mikroorganizama, izazivanje napuknuća staničnih stijenki, modificiranje unutarstaničnih mehanizama i povećanje osjetljivosti na djelovanje topline. Uz sve navedene mogućnosti, kavitacija uključuje i fragmentaciju staničnih membrana te strukturalne promjene i interakciju s DNA (Ljubić i sur., 2015). Ovisno o učinkovitosti, ultrazvučna kavitacija, može uzrokovati povećanje polupropusnosti stanične membrane ili je u potpunosti uništiti, što naposljetku dovodi do

inaktivacije i redukcije broja mikroorganizama u tretiranom mediju. Općenito, korištenje ultrazvuka visokog intenziteta uz povišenu temperaturu i tlak doprinosi boljoj inaktivaciji mikroorganizama i enzima. Takva kombinacija doprinosi većoj uspješnosti procesa inaktivacije na nižim temperaturama koje pružaju rješenje za industrijsko dobivanje kvalitetnije hrane (Ünver, 2016).

Ultrazvuk visokog intenziteta vrlo je učinkovit u stvaranju stabilnih emulzija. Do stvaranja emulzije dolazi u dva koraka. Prvi korak jest stvaranje interfacijalnih valova u akustičnom polju, između uljnih i tekućih faza koje mogu postati nestabilne, što posljedično dovodi do stvaranja velikih uljnih kapljiva u vodenoj fazi. Drugi korak je djelovanje smičnih sila koje uzrokuju razbijanje velikih uljnih kapljica pri čemu nastaju manje kapljice. Najmanja moguća veličina kapljica koja se može postići u emulziji ovisi o korištenoj površinski aktivnoj tvari te se može izraziti kao omjer površinski aktivne tvari i ulja, s obzirom da to određuje interfacijalnu energiju između dviju faza (Kentish i Feng, 2014). Stoga ultrazvuk može biti učinkovita alternativa postupcima homogenizacije i mikrofluidizacije u postizanju istog cilja uz minimalan unos energije. Konkretno, upotrebom blago povišeg tlaka nastaju kapljice manjih dimenzija za ekvivalentni unos energije (Kentish i Feng, 2014). Homogenizacija ultrazvukom visokog intenziteta povećava stabilnost grubo disperznih sustava. Uglavnom se koristi za procese u kojima dolazi do smanjenja veličine disperznog sustava, s ciljem postizanja veće disperznosti, tj. homogenosti sustava (Ünver, 2016).

Učinak ultrazvuka na tekući medij također se pokazao korisnim u inaktivaciji enzima poput pektin metil esteraza, polifenoloksidaza i peroksidaza koji su odgovorni za naknadno kvarenje obrađenih smoothieja, tj. voćnih i povrtnih sokova. U kombinaciji s toplinom, ultrazvuk može ubrzati postupak sterilizacije, uz smanjeni intenzitet termičke obrade i kraće vrijeme obrade. Emulgiranje ultrazvukom postaje sve više korišteno u prehrambenoj industriji, posebice kod proizvoda kao što su smoothieji (Chemat i sur., 2010).

2.2.3 Primjena ultrazvuka u prehrambenoj industriji

Tehnologija ultrazvuka već se uvelike koristi u farmaceutskoj, kozmetičkoj, tekstilnoj, petrokemijskoj i mnogim drugim industrijama, a u posljednje vrijeme korištenje ultrazvuka postaje i dio prehrambene industrije (Soria i Villamiel, 2010). Prilagodbe dviju vrsta ultrazvuka, ultrazvuk niskog i visokog intenziteta pokazale su značajan potencijal u prehrambenoj tehnologiji. Do nedavno, primjena ultrazvuka u prehrambenoj industriji uključivala je samo ultrazvuk niskog intenziteta, tj. nerazornu tehniku čiji je intenzitet manji

od 1 W cm^{-2} . Prvenstveno se ultrazvuk niskog intenziteta koristi kao analitička metoda za modificiranje i određivanje različitih svojstva sirovina, sustava, ali i gotovih obrađenih prehrambenih proizvoda, te za procjenu kvalitete i otkrivanje stranih tijela u proizvodu. Dok danas sve veći značaj postiže ultrazvuk visokog intenziteta koji se koristi kao netoplinška tehnika obrade proizvoda, gdje dolazi do promjena u fizikalno-kemijskim svojstvima proizvoda (Soria i Villamiel, 2010; Brnčić i sur., 2009). Ponajviše se koristi u proizvodnji voćnih/povrtnih sokova, mljekarskoj industriji i dr., budući da su emulzije proizvedene ultrazvukom stabilnije od onih koje se proizvode na konvencionalan način (Soria i Villamiel, 2010). Isto tako jedna od glavnih i najčešćih primjena ultrazvuka u industriji jest čišćenje odnosno dekontaminacija površina i sterilizacija uređaja. Osim toga ultrazvuk se koristi najviše u preradi hrane gdje je potrebna emulgacija, homogenizacija, ekstrakcija, također je koristan pri procesima kristalizacije gdje potiče nastajanje i daljnje stvaranje kristala, te sam rast kristala. Može se koristiti i kod otplinjavanja tekućina uslijed djelovanja kavitacija. Ultrazvuk također ima veliki utjecaj na poboljšanje procesa filtracije budući da uzrokuje aglomeraciju sitnih čestica što značajno povećava brzinu protjecanja kroz filter. Sve se više koristi kao zamjena za konvencionalno sušenje, budući da se sušenje potpomognuto ultrazvučnim zračenjem može izvoditi pri nižim temperaturama, čime se smanjuje oksidacija i propadanje materijala (Ünver, 2016).

Jedna od najznačajnijih prednosti korištenja ultrazvuka visokog intenziteta u prehrambenoj industriji jest unaprjeđenje obrade hrane, s ciljem dobivanja proizvoda boljih senzorskih i mikrobioloških karakteristika, veće nutritivne vrijednosti uz kraći vremenski period obrade i proizvodnje, te znatnu uštedu energije.

2.3 VISOKI HIDROSTATSKI TLAK

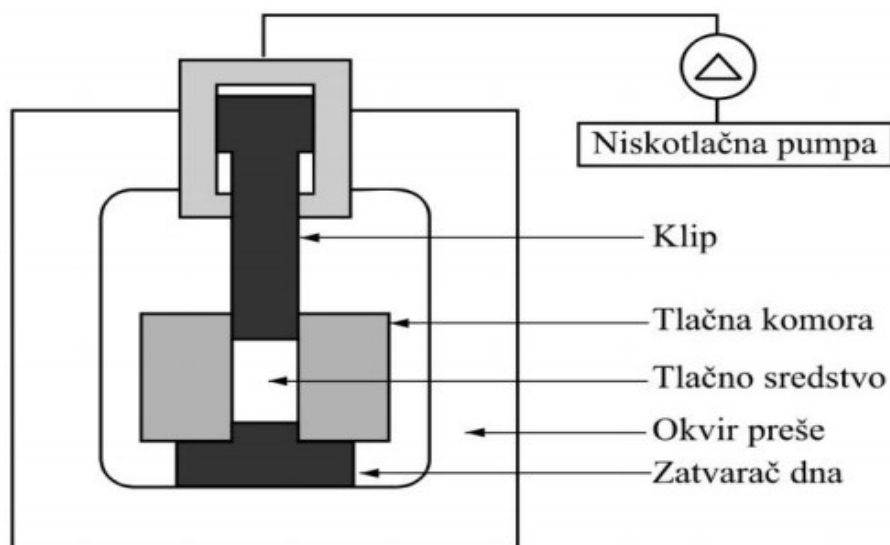
Visoki hidrostatski tlak (High hydrostatic pressure – HHP ili High pressure processing – HPP) relativno je nova netoplinška tehnologija koja se koristi za konzerviranje hrane u prehrambenoj industriji. Svoju primjenu visoki hidrostatski tlak nalazi u gotovo svim fazama proizvodnje. Kada se uspoređuje s toplinskim tehnologijama, visoki hidrostatski tlak karakteriziraju tri glavna parametra: temperatura (T), tlak (p) i vrijeme tretiranja (t). Ključna prednost korištenja ove tehnologije umjesto alternativnih toplinski tehnologija je svakako temperatura. Tijekom procesa obrade dolazi do neznatnog povišenja temperature, te se uglavnom sam proces provodi na sobnoj temperaturi ili pri blago povišenim temperaturama, koje ne mogu značajno utjecati na fizikalno-kemijske komponente obrađenog proizvoda. Isto

tako, vrijeme trajanje obrade je za razliku od konvencionalnih metoda puno kraće, a može trajati od nekoliko sekundi pa do 30 minuta, dok je raspon tlaka koji se može primijeniti 100–1000 MPa (Putnik i sur., 2019). Obrada čvrstih ili tekućih namirnica može se provoditi s ili bez ambalažnog materijala. Ambalaža u kojoj se provodi obrada visokim hidrostatskim tlakom mora imati elastična svojstva kako bi se postigao što bolji prijenos tlaka na proizvod tj. ambalaža mora imati sposobnost smanjenja volumena od 15 % i mogućnost vraćanja u prvobitan oblik (Hogan i sur., 2014).

Glavni potencijali ove tehnologije su povećanje efikasnosti korištenih procesa, zamjena konvencionalnih tehnologija, što dovodi do manjeg utjecaja na okoliš zbog uštede energije, čime je i ekonomski isplativija, te u se konačnici dobiva proizvod visoke kvalitete. Neke od ključnih prednosti korištenja visokog hidrostatskog tlaka u odnosu na konvencionalne metode su: obrada pri nižim temperaturama, minimalne organoleptičke promjene tretirane namirnice, obrada s ambalažnim materijalom što znatno smanjuje troškove obrade, niska koncentracija otpadnih produkata, visokoučinkovita selektivna inaktivacija mikroorganizama i vrlo velike mogućnosti razvijanja potpuno novih proizvoda (Patterson, 2005).

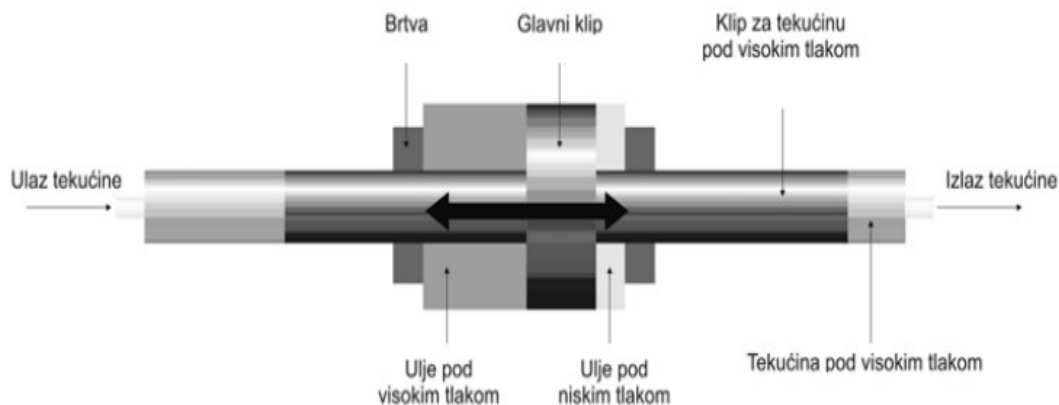
2.3.1 Princip djelovanja visokog hidrostatskog tlaka

Suvremeni visokotlačni sustav karakterizira jednolika raspodjela tlakova po cijelom obujmu tretirane namirnice neovisno o njezinom obliku i dimenzijama. Postrojenja obrade visokim hidrostatskim tlakom mogu biti kontinuirana i diskontinuirana (šaržna) (Slika 4). Pod terminom visoki hidrostatski tlak zapravo se podrazumijeva diskontinuirani postupak obrade (Bosiljkov i sur., 2010).



Slika 4. Prikaz diskontinuiranog procesa obrade visokim tlakom (Lovrić, 2000)

Sustav za obradu sastoji se od tlačne komore i uređaja za generiranje tlaka. Hrana koja se obrađuje visokim hidrostatskim tlakom stavlja se u tlačnu komoru (Patterson i sur., 2007). Razlikuje se direktna i indirektna metoda obrade. Princip djelovanja direktne metode temelji se na dovođenju ulja pod tlakom od 20 MPa na površnu klipa i preko medija se dalje prenosi radni tlak na obrađivanu namirnicu (Slika 5). Druga mogućnost jest indirektna metoda u kojoj se željeni radni tlak u cilindru ostvaruje uz pomoć visokotlačne pumpe ili pojačivača, gdje se djelomično stlačena tekućina (medij) transportira iz posude s tlačnom tekućinom u radni cilindar (Bosiljkov i sur., 2010). Najčešće korišteni medij jest voda ili smjesa vode i glikola, koja se s dna ravnomjerno ispumpava u tlačnu komoru i kada se postigne željeni tlak pumpa se zaustavlja, pri čemu se tlak može održavati na zadanoj vrijednosti bez daljnjeg ulaganja energije (Patterson i sur., 2007). Maksimalni radni tlak određuje debljina stjenke, dok se potreban radni tlak ovisan o vrsti namirnice i željenom učinku obrade, postiže se na kraju djelovanjem klipa (Elamin i sur., 2015).



Slika 5. Visokotlačna pumpa (Bosiljkov i sur., 2010)

Jedno od temeljnih načela djelovanja visokog hidrostatskog tlaka jest primjena principa izostatskog tlačenja, tj. djelovanje tlaka u svim točkama sustava istovremeno i istim iznosom. Prilikom kompresije dolazi do adijabatskog zagrijavanja što uzrokuje porast temperature tretiranog proizvoda. Opseg povećanja temperature varira ovisno o sastavu hrane (cca 3–9 °C/100 MPa) (Patterson i sur., 2007). U slučaju obrade šupljih namirnica kao i prilikom nedovoljno napunjene ambalaže koja ima prazan prostor, može doći do oštećenja namirnice ili pak iskrivljavanja ambalaže. Uz načelo izostatnog tlačenja, obrada hrane visokim hidrostatskim tlakom uključuje i Le Chatelier-ovo načelo. Le Chatelier-ovo načelo glasi: „Ako sustavu promijenimo neku intenzivnu veličinu, sustav će nastojati tu promjenu umanjiti“. Kako sustav teži stanju ravnoteže, djelovanje povišenog tlaka uzrokovat će smanjenje volumena, pri čemu će sve ostale reakcije koje vode k povećanju volumena biti inhibirane (Elamin i sur., 2015). Promjene obujma namirnice dovode do kemijskih reakcije koje imaju izravan utjecaj na intramolekulske interakcije unutar same namirnice. Visoki hidrostatski tlak ima najveći utjecaj na nekovalentne veze, gdje uzrokuje pucanje slabih vodikovih, ionskih i hidrofobnih veza, te van der Waalsovih sila, što posljedično uzrokuje fizikalno–kemijske promjene u prehrambenim proizvodima. Samo povišenje tlaka može uvelike utjecati na velike molekule, poput enzima, proteina, lipida i staničnih membrana, gdje dolazi do promjena u staničnoj strukturi, te može dovesti do denaturacije proteina, deaktivacije enzima i inaktivacije mikroba. S druge strane djelovanje visokog hidrostatskog tlaka nema značajan utjecaj na kovalentne veze te u većini slučajeva one ostaju nepromijenjene. Utjecaj na male molekule poput vitamina, komponenata okusa i mirisa, i dr. također je neznatan (Huang i sur., 2019).

2.3.2 Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka na kvalitetu smoothieja

Smoothie je piće koje je po proizvodnji odmah svježije spremno za konzumaciju, te zahvaljujući svom visokovrijednom sastavu ispunjava zahtjeve današnjih potrošača za funkcionalnom hranom. To je dovelo do ubrzanog porasta njihove popularnosti, međutim uz kratak rok trajanja i nemogućnost konzumiranja smoothieja odmah nakon pripreme, sve se više predlaže obrada visokim hidrostatskim tlakom, kako bi se očuvali bioaktivni spojevi, te ujedno produljio rok trajanja uz pravilno skladištenje (Fernandez i sur., 2018). Donedavno, tekuća hrana, odnosno tekući napici konzervirani su se isključivo toplinskim tretmanima, kao što su pasterizacija i sterilizacija. Iako su ti procesi obrade vrlo dobri u osiguranju sigurnosti i prevencije potencijalnog kvarenja obrađenog proizvoda zbog obrade pri visokim temperaturama, ipak većim dijelom uzrokuju gubitak termolabilnih hranjivih tvari, poput vitamina ili bioaktivnih fitokemikalija (Yammamoto, 2017).

Jedna od glavnih prednosti obrade smoothieja visokim hidrostatskim tlakom jest mali utjecaj na poželjne komponente: minerale, pigmente, hlapljive spojeve, vitamine i bioaktivne spojeve u hrani. Očuvanje poželjnih komponenata moguće je postići zbog minimalnog utjecaja visokog hidrostatskog tlaka na kovalentne veze (Mahadevan i Karwe, 2016).

Što se tiče mikrobne inaktivacije, utvrđeno je da visoki hidrostatski tlak mijenja strukturu stanica i samu fiziološku funkciju, raščlanjivanjem DNK-a, što dovodi do narušavanja integriteta stanične membrane, inaktivacijom ključnih enzima uz nepovratnu denaturaciju proteina i onesposobljavanje membranske selekcije. Inaktivacija enzima povezana je s konformacijskim promjenama do kojih dolazi u proteinskoj strukturi. Ovisno o intenzitetu primijenjenog tretmana, djelovanje visokog hidrostatskog tlaka može pojačati ili inhibirati enzimsku aktivnost, što prvenstveno ovisi o vrsti enzima i svakako o uvjetima korištenog procesa (Augusto i sur., 2018).

Općenito, gram-pozitivne bakterije, npr. *Listeria monocytogenes* i *Staphylococcus aureus*, pokazuju puno veću otpornost na utjecaj visokih tlakova u odnosu na gram-negativne bakterije, kao što su *Pseudomonas*, *Salmonella* i dr. (npr. za efektivnu redukciju bakterije *L. monocytogenes* potreban je minimalni tlak od 600 MPa u trajanju od 3 minute). Najveću otpornost na utjecaj visokog hidrostatskog tlaka imaju bakterijske spore, dok se vegetativne stanice, kvasci i plijesni mogu uspješno inaktivirati pri nešto nižim tlakovima, međutim kako visoki hidrostatski tlak ne može u potpunosti inhibirati rast spora, ne preporuča se njegovo korištenje pri sobnim temperaturama (Huang i sur., 2019).

2.3.3 Primjena visokog hidrostatskog tlaka u prehrambenoj industriji

Jedan od glavnih problema u prehrambenoj industriji, posebice kod proizvodnje voćnih i povrtnih sokova, te smoothieja, jest gubitak senzorskih i funkcionalnih karakteristika proizvoda, do kojih dolazi primjenom toplinskih metoda, pasterizacije i sterilizacije. Uvođenje i komercijalna primjena nove netoplinske tehnologije, visokog hidrostatskog tlaka u prehrambenoj industriji, odvija se pri tlakovima 400–600 MPa, pri čemu je vrijeme tretiranja otprilike 10 minuta. Također, povećanje tlaka od 100 MPa uzrokuje povećanje temperature 3 °C u sustavu. Povećanje temperature ovisi ponajprije o promatranj komponentni: vodi, mastima ili proteinima. Prvenstveno obrada netoplinskim tehnologijama ima utjecaj na mikrobiološku kvalitetu, tj. sam cilj obrade visokim hidrostatskim tlakom jest inaktivacija mikroorganizama i enzima koji uzrokuju kvarenje, kako bi se postigla svježina i produljenja trajnost obrađenog proizvoda (Huang i sur., 2019). Uz to, potrebno je osigurati i čuvati obrađene proizvode na temperaturi od 4 °C, kako bi se dodatno stabilizirale bioaktivne komponente i antioksidacijska aktivnost. Nakon provedene obrade visokim hidrostatskim tlakom izbjegava se gubitak bitnih nutritivnih sastojaka svježe obrađene hrane i dobiva se proizvod sa značajnim prehrambenim i senzorskim karakteristikama uz produljenje roka trajanja (Andreas i sur., 2016). Picouet i sur. (2016) također su dokazali kako obrada visokim hidrostatskim tlakom pruža bolje i nutritivno kvalitetnije smoothieje u odnosu na obradu konvencionalnim postupkom.

Obrada visokim hidrostatskim tlakom smatra se jednom od najuspješniji netoplinskih tehnologija današnjice u prehrambenoj industriji, zbog mogućnosti uklanjanja različitih vrsta mikroorganizama i patogena pri sobnoj temperaturi, čime se produžuje rok trajanja tretiranih proizvoda. Američka agencija za hranu i lijekove (FDA) službeno je odobrila korištenje visokog hidrostatskog tlaka kao netoplinsku tehnologiju koja može uspješno zamijeniti tradicionalnu toplinsku obradu pasterizacijom u prehrambenoj industriji (Huang i sur., 2017).

2.4 PASTERIZACIJA

Pasterizacija je toplinski tretman u kojem dolazi do zagrijavanja tretirane namirnice na temperaturama nižim od 100 °C tijekom određenog vremenskog perioda. Primjena visokih temperatura uzrokuje manje izmjene u sastavu kako hranjivih i senzorskih svojstava obrađene namirnice. Primjenom pasterizacije postiže se veća sigurnost prehrambenih proizvoda, budući proces pasterizacije uzrokuje uništenje patogenih mikroorganizama prisutnih u hrani i produljuje rok trajanja voćnih sokova za nekoliko dana/tjedana uništenjem ostalih

mikroorganizama i inaktivacijom enzima (Fellows, 2009). Toplinski postupak pasterizacije može nepovoljno djelovati na stabilnost pigmenata te u slučaju nepotpune inaktivacije enzima, može doći i do enzimskog posmeđivanja djelovanjem peroksidaze. Kako bi se to spriječilo potrebno je provesti deaeraciju, odnosno ukloniti kisik prije same pasterizacije. Tijekom pasterizacije, također dolazi do gubitka hlapljivih aromatskih spojeva, što dovodi do smanjenja kvalitete proizvoda, a s druge strane također može prouzrokovati nepoželjne organoleptičke promjene nastale za vrijeme pasterizacije (Fellows, 2017).

2.4.1 Princip djelovanja

Toplinska obrada uzrokuje uništavanje vegetativnih stanica patogenih bakterija pri relativno niskim temperaturama pasterizacije. Stanice kvasca uništavaju se pri temperaturi od 55 °C u vremenskom periodu 10–20 minuta, dok se stanice i spore kvasaca i plijesni mogu uništiti pri 71,7 °C/oko 15 sekundi. Tijekom pasterizacije također dolazi do inaktivacije bakterija za što treba osigurati osnovne uvjete: temperaturu zagrijavanja, trajanje zagrijavanja i kretanje tretiranog proizvoda (prilagođavanje protoka). Intenzitet svih promjena ovisi o kombinaciji temperature i trajanja zagrijavanja, sastavu i kakvoći tekućeg medija (pH, sadržaj kisika, veličina globula masti i mikrobiološkoj kakvoći). Danas su aktualne tri vrste pasterizacije, koje se razlikuju u kombinacijama temperature i vremena obrade:

1. niska temperatura, dugotrajno zagrijavanje (LTLT – 60 °C/30 minuta)
2. visoka temperatura, kratkotrajno zagrijavanje (HTST – 72 °C/15 sekundi)
3. ultra – visoka temperatura (138 °C/2 sekunde)

Mikrobiološka stabilnost tretiranog proizvoda može se procijeniti na osnovi podataka o vjerojatnosti preživljavanja mikroorganizama prisutnih prije toplinske obrade. Budući da je poznato, kako nije moguće postići apsolutnu sterilnost proizvoda podvrgnutog termičkom tretmanu kroz određeno vrijeme, uvodi se pojam komercijalne sterilnosti. Komercijalna sterilnost proizvoda postiže se prilikom dovoljno velike redukcije inicijalne mikrobne populacije. Ukoliko se u proizvodu može razviti patogeni mikroorganizam, potrebno je termičkom obradom osigurati vrlo nisku stopu preživljavanja, dok se kod nepatogenih mikroorganizama može prihvatiti znatno veći rizik kvarenja. Bitan kriterij kod utvrđivanja uvjeta i izbor postupka pasterizacije je kiselost, tj. pH tretirane namirnice, budući da o pH vrijednosti ovisi koji mikroorganizmi mogu djelovati kao potencijalni kontaminanti, kao i njihova toplinska otpornost. Toplinska otpornost bakterija najveća je pri pH 7, dok snižavanjem pH vrijednosti raste brzina inaktivacije mikroorganizama. Ukoliko se kao

granica kiselosti između slabo kiselih i kiselih namirnica uzme pH 4,5, tada je za kisele namirnice pH < 4,5 čije kvarenje izazivaju kvasci, plijesni i nesporogene bakterije, dovoljna samo pasterizacija, dok je za slabo kisele namirnice pH > 4,5 potrebna sterilizacija, odnosno termička obrada pri temperaturama iznad 100 °C (Lovrić, 2000).

Kod izbora uređaja za pasterizaciju potrebno je utvrditi prirodu namirnice, točnije odrediti njezina svojstva, vrstu ambalaže i kapacitet uređaja. Razlikuju se kontinuirani (tunelski pasterizator) i diskontinuirani uređaji (vodena kupelj), procesi se mogu provoditi pri atmosferskom ili povećanim tlakom (Lovrić, 2000).

3 EKSPERIMENTALNI DIO

3.1 MATERIJALI

Prilikom eksperimentalnog dijela diplomskog rada korišten je svježi smoothie. Za pripremu smoothieja koristile su se jabuke, mrkva i cikla, točnije koristile su se u omjeru od 50 % jabuka sorte „Zlatni Delišes“, 30 % mrkve i 20 % cikle te je u pojedine uzorke bilo dodano i hladno prešano sezamovo ulje proizvođača „Nutrigold“ u volumnom udjelu od 0,5 mL i 1 mL. Sve sirovine skladištene su do trenutka obrade u hladnjaku na temperaturi od 4 °C.

3.2 METODE RADA

3.2.1 Priprema smoothieja

Kod pripreme smoothieja koristila su se dva različita sokovnika kako bi se postigla što bolja iskoristivost sirovina. Najprije su se sirovine oprale, nakon čega je neposredno prije cijedenja jabukama uklonjena sjemena loža i peteljka, dok se kod mrkve i cikle uklonio površni sloj. Sokovnik korišten za cijedenje jabuka je bio uređaj „*TEFAL Infinity Press Revolution ZC500H38*“ (Francuska) (Slika 6b) snage 300 W, brzine okretaja 80 o min⁻¹ i promjera filtera 0,5 mm. Drugi korišteni sokovnik je uređaj „*BOSCH MES4000*“ (Njemačka) (Slika 6a) snage 1000 W i filterom promjera 0,5 mm, a korišten za cijedenje mrkve i cikle. Princip rada sokovnika jest sporo rotirajući mehanizam prilikom čega dolazi do usitnjavanja voća i povrća koje tada zbog djelovanja centrifugalne sile prolazi kroz filter i skuplja se u odgovarajuću posudu. Na kraju je potrebno ukloniti pjenu koja je nastala tijekom cijedenja. Smoothiejima od 150 mL dodao se volumen sezamovog ulja od 0,5 mL i 1 mL pomoću pipeta od 10 mL nakon čega su bili podvrgnuti obradi ultrazvukom visokog intenziteta i visokom hidrostatskom tlaku te pasterizacijom, uz to napravljen je i referentni uzorak bez dodanog ulja. Nakon provedene obrade uzorcima su određena sljedeća fizikalna svojstva: apsorbancija, boja, gustoća, viskoznost i pH vrijednost. Također je bila provedena i mikrobiološka analiza svih uzoraka.



Slika 6. Sokovnici „BOSCH MES4000“ (a) i „TEFAL Infinity Press Revolution ZC500H38“ (b) (Bosch, 2020; Tefal, 2020)

3.2.2 Obrada smoothieja ultrazvukom

U obradi smoothieja korišten je ultrazvučni procesor „dr. Hielscher“ oznake UP 100H (Njemačka) (Slika 7) s maksimalnom nominalnom snagom od 100 W. Tretirani se uzorak volumena 150 mL obrađivao u laboratorijskim čašama od 200 mL. Mjerenja su se provodila pri vrijednostima amplituda od 60 i 100 %, u vremenskom periodu od 2, 6 i 10 minuta, sa sondama promjera 7 i 10 mm. Sonda je tijekom obrade bila uronjena 2 cm ispod površine, dok je ciklus tijekom svih mjerenja bio 1.

Paralelno tijekom obrade ultrazvukom, također se mjerila i temperatura svakih 30 sekundi u danim vremenskim periodima od 7 i 10 minuta. Uređaj koji se koristio za mjerenje je infracrveni mjerač temperature „Raytek“ s temperaturnim rasponom $[(-30) - 200 \text{ }^{\circ}\text{C}]$. IR zraku potrebno je usmjeriti na tretirani uzorak i očitati temperaturu direktno s ekrana na uređaju.



Slika 7. Ultrazvuk visokog intenziteta „dr. Hielscher UP 100H“, Njemačka (Hielscher, 2020)

3.2.3 Obrada smoothieja visokim hidrostatskim tlakom

Obrada visokim hidrostatskim tlakom vršila se na uređaju „Stansted Fluid Power“, Velika Britanija (Slika 8). Volumen radnog cilindra iznosi 2 L, a maksimalan mogući tlak je 900 MPa. Svi uzorci tretirani su u plastičnim bočicama volumena 50 mL i 100 mL. Bočice se moraju napuniti do vrha i zatvoriti plastičnim zatvaračem. Korištene su dvije vrste volumena zbog provođenja mikrobiološke analize (50 mL) i određivanja fizikalnih svojstava tretiranog proizvoda (100 mL). Uzorak za mikrobiološku analizu obrađivao se u posebnoj bočici kako ne bi došlo do naknadne kontaminacije. Neposredno prije obrade, uzorci u pripremljenim plastičnim bocama su vakuumirani u jednokratnu ambalažu. Vakuumiranje se provodilo na uređaju „STATUS SV2000“. Nakon vakuumiranja uzorci su spremni za obradu visokim hidrostatskim tlakom te se postavljaju u radni cilindar koji se ispunjava tlačnom tekućinom, odnosno propilen-glikolom. Obrada uzoraka vršila se pri tlakovima od 150, 300 i 450 MPa, u vremenskom periodu od 3, 9 i 15 minuta.



Slika 8. „Stansted Fluid Power“ Velika Britanija, uređaj za obradu visokim hidrostastkim tlakom*

**Slika uređaja za obradu visokim hidrostastkim tlakom izvorno je nastala u Laboratoriju za tehnološke operacije, Prehrambeno – biotehnološkog fakulteta.*

3.2.4 Pasterizacija

Pasterizacija smoothieja proveda se u šaržnom pasterizatoru „PS 100“, Hrvatska (Slika 9). Šaržni pasterizator volumena je 100 L, snage grijača od 6,5 kW i priključnog napona od 400 V. Volumen uzorka je bio 450 mL te je sam uzorak bio obrađen u zatvorenim staklenim bocama veličine 500 mL na način da su tako pripremljene staklene boce stavljene u vodenu kupelj i osigurane metalnom pregradom kako ne bi došlo do prevrtanja. Uzorci su tretirani na temperaturi od 85 °C u vremenskom periodu od 5 minuta.



Slika 9. Šaržni pasterizator PS 100 (PBF, 2020)

3.2.5 Određivanje apsorbancije i boje

Uređaj korišten za mjerenje apsorbancije i boje je spektrofotometar „Konica Minolta CM3500d“, Japan (Slika 10). Neposredno prije svakog mjerenja uređaj je potrebno kalibrirati upotrebom destilirane vode. Uzorci su se mjerili pri temperaturi od 20 °C u kiveti promjera 1 cm, napunjene uzorkom do oznake. Apsorbancija se mjerila pri 740 nm nakon obrade ultrazvukom visokog intenziteta i visokog hidrostatskog tlaka, svakih 15 minuta unutar vremenskog perioda od 2 sata i 24 sata nakon obrade. Kod određivanja boje uzorci su se pomoću pipete od 10 mL stavljali u staklene Petrijeve zdjelice u količini od 20 mL, na mjernu površinu od 30 mm. Prije određivanja boje uređaj je potrebno kalibrirati za izabranu masku otvora 30 mm. Nakon što se uzorak namjesti na površinu otvora mjere se reflektancije u vidljivom području: L^* , a^* , b^* vrijednosti. Boja se određuje u CIE koordinatnom sustavu boje (eng. *International Commission on Illumination*) (Slika 11). Spektrofotometar je spojen na računalo, te se pomoću programskih paketa „Spectra Magic™ NX Ver. 1,7“ i „Color Dana Software CM – S 100 W“ mogu lako očitati dobivene vrijednosti.



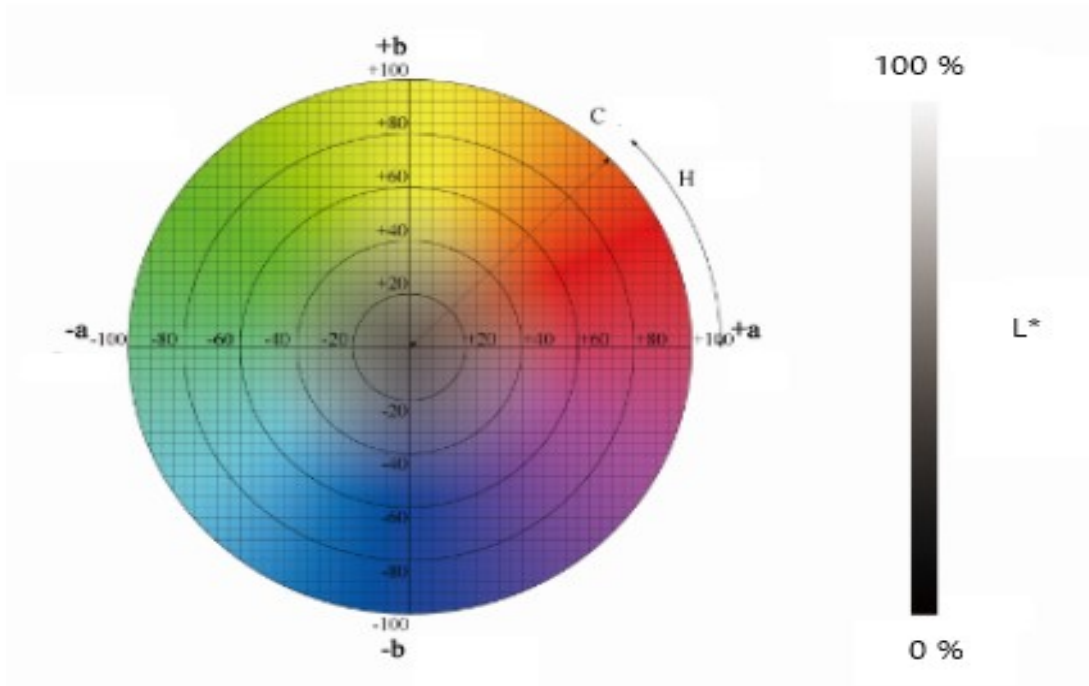
Slika 10. Kolorimetar Konica – Minolta CM-3500-d, Japan (Konica Minolta, 2020)

Glavni parametri boje:

L^* – koordinata svjetlina s rasponom vrijednosti od 0 (crna boja) do 100 (bijela boja)

a^* – koordinata obojenja s pozitivnim i negativnim smjerom, tj. vektorom crvene boje ($+a^*$) odnosno vektorom zelene boje ($-a^*$)

b^* – koordinata obojenja s pozitivnim i negativnim smjerom, tj. vektorom žute ($+b^*$) i vektorom plave boje ($-b^*$)



Slika 11. CIE koordinatni sustav

Iz dobivenih vrijednosti L^* , a^* i b^* potrebno je izračunati razliku u boji, tj. ΔE_{ab}^* vrijednosti za svaki uzorak (2):

$$\Delta E_{ab}^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad [2]$$

gdje su ΔL^* , Δa^* i Δb^* vrijednosti izračunate razlikom netretiranog i tretiranog uzorka odmah nakon provedene obrade i nakon 24 sata.

3.2.6 Određivanje viskoznosti

Uređaj korišten za mjerenje prividne viskoznosti je „Fungilab ALPHA“ (Sjedinjene Američke Države) (Slika 12) s rotacionim elementom oznake L2. Mjerenje se provodilo neposredno nakon obrada ultrazvukom i visokim hidrostatskim tlakom te pasterizacijom. Kod svakog uzorka mjerila se prividna viskoznost pri različitim smičnim brzinama: 20, 30, 50, 60 i 100 RPM–a. Uzorci su se nalazili u čašama volumena 200 mL, gdje je potrebno uroniti mjerno vratilo do oznake, tj. rotacioni element u potpunosti mora biti uronjen u uzorak.



Slika 12. Fungilab, uređaj za mjerenje prividne viskoznosti (Fungilab, 2020)

3.2.7 Određivanje gustoće

Gustoća se određivala na uređaju „Mettler Toledo DE40“, Švicarska (Slika 13). Raspon mjerenja gustoće na ovom uređaju iznosi $0,0000 \text{ g cm}^{-3} - 3,0000 \text{ g cm}^{-3}$. Mjerenja su se provodila na temperaturi od $20 \text{ }^\circ\text{C}$ s točnošću od $0,0001 \text{ g cm}^{-3}$. Neposredno prije mjerenja potrebno je komoru uređaja isprati destiliranom vodom i pomoću pumpe izbaciti nepoželjni

sadržaj kako bi uređaj bio spreman za mjerenje. Uzorak se injektirao uz pomoć plastične šprice u volumenu od 1 mL.



Slika 13. Mettler Toledo Density Meter DE 40, Švicarska (MT, 2020)

3.2.8 Određivanje pH vrijednosti

pH vrijednost mjerila se pomoću pH metra „*WTW Ph 330i/SET*“, Njemačka (Slika 14). pH vrijednost smoothieja mjerila se nakon obrade ultrazvukom i visokim hidrostatskim tlakom te pasterizacijom. Prije mjerenja potrebno je sondu uređaja isprati destiliranom vodom, nakon čega je potrebno uroniti u tekući uzorak kojemu želimo izmjeriti pH vrijednost.



Slika 14. pH metar „*WTW Ph 330i/SET*“ (PBF, 2020)

3.2.9 Praćenje mikrobiološke kvalitete smoothieja

Kod provođenja mikrobiološke analize bilo je potrebno pripremiti hranjive podloge koje su se koristile za uzgoj test – mikroorganizama. Korištene hranjive podloge:

- HA (hranjivi agar); sastav (g L⁻¹ destilirane vode): pepton 15; mesni ekstrat 3; natrijev klorid 5; K₃PO₄ 0,3; agar 18; pH vrijednost podloge 7,3; sterilizacija je provedena u autoklavu pri 121 °C tijekom 15 minuta
- SA (sladni agar); sastav (g L⁻¹ destilirane vode): sladni ekstrakt 6; maltoza 1,8; glukoza 6; ekstrakt kvasca 1,2; pH vrijednost podloge 4,7; sterilizacija je provedena u autoklavu pri 121 °C tijekom 15 minuta
- LJCŽA (ljubičasto crveno žučni agar); sastav (g L⁻¹ destilirane vode): pepton 7; ekstrakt kvasca 3; natrijev klorid 5; žučne soli 1,5; glukoza 10; neutralno crveno 0,03; kristal violet 0,002; agar 15. pH vrijednost podloge 7,4; sterilizacija je provedena na plameniku do vrenja uz povremeno miješanje
- XLD (ksiloza – lizin – deoksiholat agar); sastav (g L⁻¹ destilirane vode): ksiloza 3,75; L – lizin 5; laktoza 7,5; saharoza 7,5; natrijev klorid 5; ekstrakt kvasca 3; natrijev deokikolat 1; natrijev tiosulfat 6,8; amonij željezov (III) citrat 0,8; fenol crveno 0,08; agar 14,5. pH vrijednost podloge 4,7; sterilizacije je provedena na plameniku do vrenja uz povremeno miješanje
- OXFORD agar; sastav (g L⁻¹ destilirane vode): pepton 23; litij – klorid 15; natrij – klorid 5; kukuruzni škrob 1; eskulin 1; željezo amonijev citrat 0,5; bakteriološki agar: 10; pH vrijednost podloge 7,0 ± 0,2; sterilizacija je provedena u autoklavu pri 121 °C tijekom 15 minuta

Osim hranjivih podloga, bila je potrebna još i dodatna oprema kako bi se uspješno provele analize. Korišteni pomoćni pribor: automatske pipete (Eppendorf, SAD), vibracijska miješalica (Tehnica, Slovenija), autoklav (Sutjeska, Jugoslavija) i inkubator MEMMERT BE 600 (Memmert GmbH + Co.KG, Njemačka). Kako bi se uzorak što pravilnije razmazao po hranjivoj podlozi koristila se „*drigalski*“ špatula, koja se prethodno dezinficirala u etanolu.

Nakon što su smoothieji pripremljeni i tretirani ultrazvukom visokog intenziteta, visokim hidrostatskim tlakom ili pasterizacijom provela se mikrobiološka analiza. Mikrobiološka analiza se također ponovila nakon 7 i 14 dana za mikroorganizme propisane pravilom o mikrobiološkim kriterijima za namirnice (Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu; EC, 2073/2005; EC, 853/2004; EC 854/2004). Ukupan broj mikroorganizama određen je nakon

inkubacije na hranjivom agaru pri 37 °C tijekom 24 sati. *Listeria monocytogenes* određivana je na OXFORD agaru na 37 °C tijekom 24 sata. Enterobakterije određene su uzgojem na LJCŽA agaru također na 37 °C tijekom 24 sata, dok se *Salmonella* sp. određivala uzgojem na XLD agaru na 37 °C tijekom 24 sata. Kvasci i plijesni određivali su se uzgojem na sladnom agaru pri 28 °C tijekom 24 sata. Konačni mikrobni rast određen je brojanjem poraslih kolonija, a rezultati su izraženi kao CFU mL⁻¹. Budući da su se analize ponavljale nakon 7 i 14 dana uzorci su se skladištili u hladnjaku na temperaturi od 4 °C.

3.2.10 Statistička obrada rezultata

Dobiveni rezultati obrađeni su pomoću probne verzije programa „*Statistica 12*“ (Informer Technologies, SAD). Analizom varijance (ANOVA) određena je statistička značajnost utjecaja procesnih parametara na parametre deskriptivne statistike i izražena je preko p – vrijednosti ($p < 0,05$).

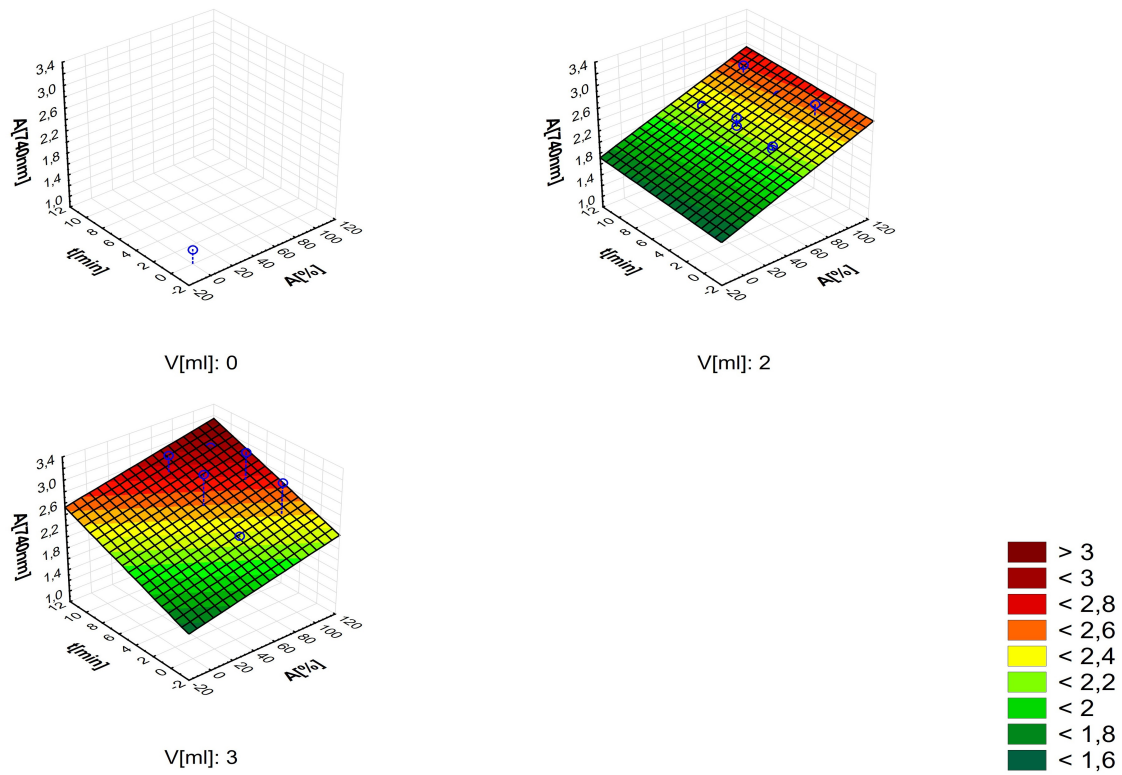
4 REZULTATI I RASPRAVA

Svrha eksperimentalnog dijela diplomskog rada bila je odrediti utjecaj netoplinskih tehnologija, ultrazvuka visokog intenziteta i visokog hidrostatskog tlaka na fizikalna svojstva pripremljenog smoothieja. Kod ultrazvuka se pratio utjecaj intenziteta i vremena obrade, dok se kod visokog hidrostatskog tlaka pratio tlak i također vrijeme obrade. Osim utjecaja na fizikalna svojstva smoothieja, također se pratila i mikrobiološka kvaliteta tako obrađenih smoothieja. Glavna polazna pretpostavka jest dobivanje proizvoda s minimalnim promjenama nutritivnih i senzorskih karakteristika, posebice svježine i stabilnosti dobivene emulzije, te bolja mikrobiološka kvaliteta i svakako produljenje roka skladištenja proizvoda.

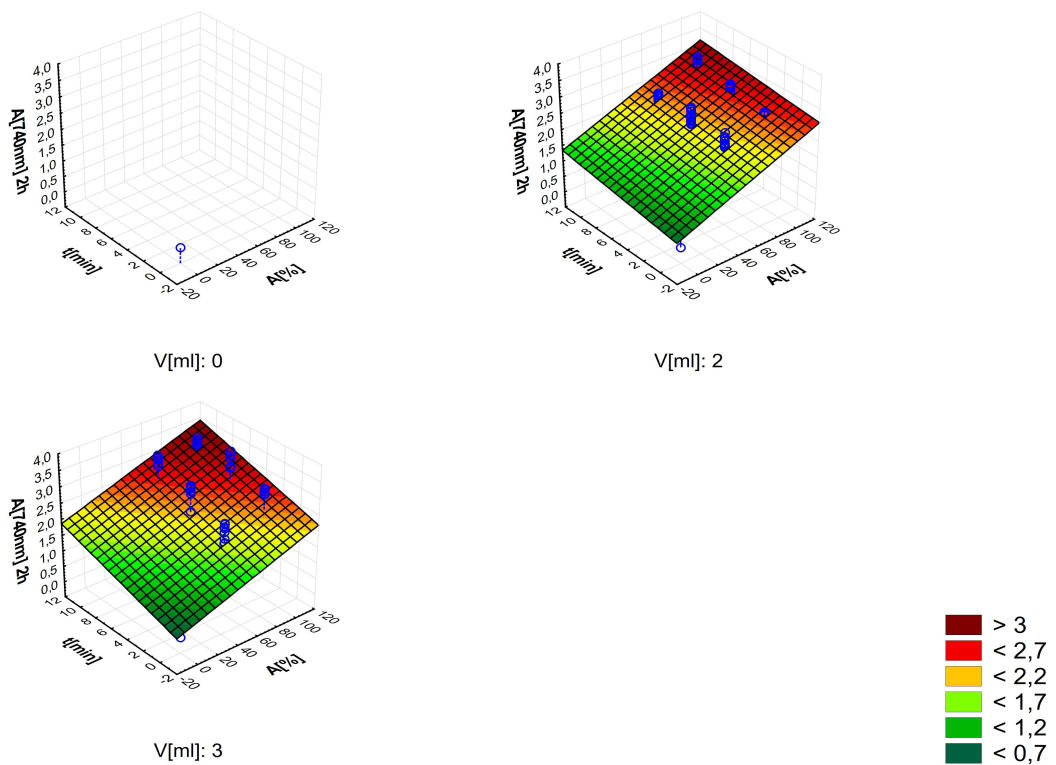
Rezultati su prikazani putem 3D – kategorijskih dijagrama kako bi se što jasnije uočile promjene promatranih fizikalnih svojstava obrađenog smoothieja.

Promjene fizikalnih svojstava, točnije temperature, apsorbancije, boje, gustoće i viskoznosti smoothieja tretiranog ultrazvukom visokog intenziteta prikazane su 3D kategorijskim dijagramima (Slike 15 – 24), dok su promjene fizikalnih svojstava smoothieja tretiranog visokim hidrostatskim tlakom prikazane na Slikama 25 – 31. Referentne vrijednosti pojedinog fizikalnog svojstva prikazane su oznakom „0“. Rezultati dobiveni tijekom kolorimetrijske i mikrobiološke analize prikazani su u tablicama. U tablicama 1 – 6 prikazane su kolorimetrijske vrijednosti, dok su u tablicama 7 – 11 prikazani rezultati mikrobiološke analize.

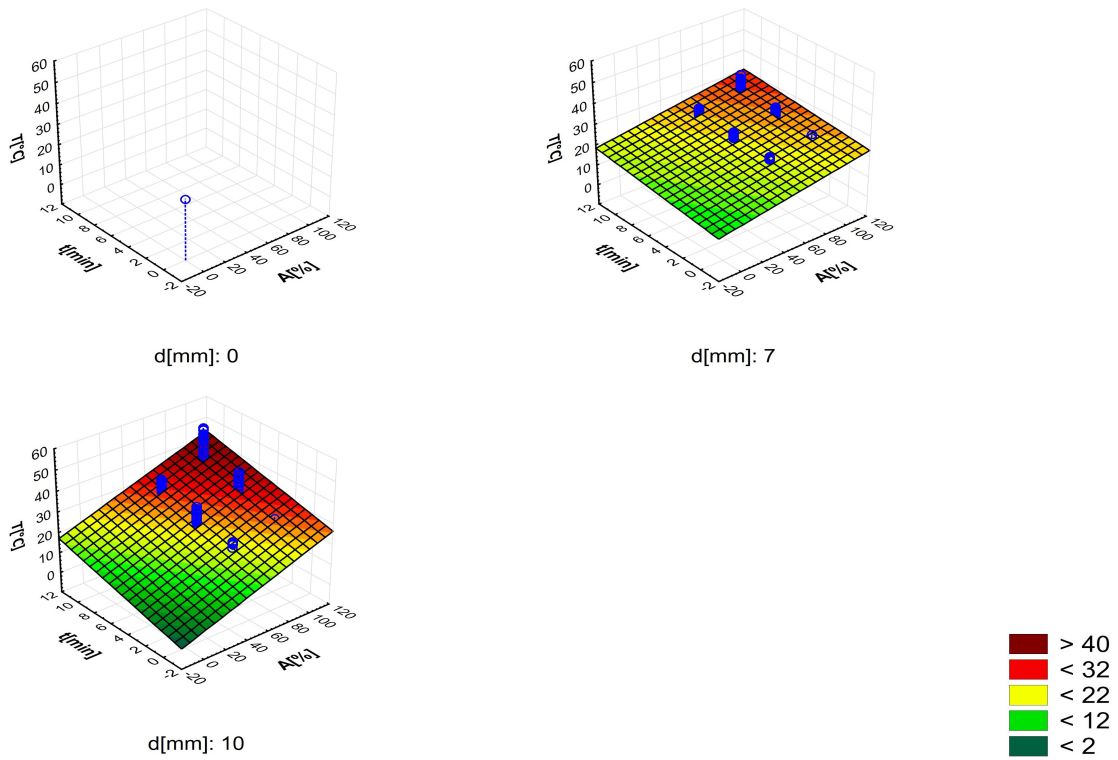
Dobiveni i obrađeni rezultati prikazani su grafički i tablično.



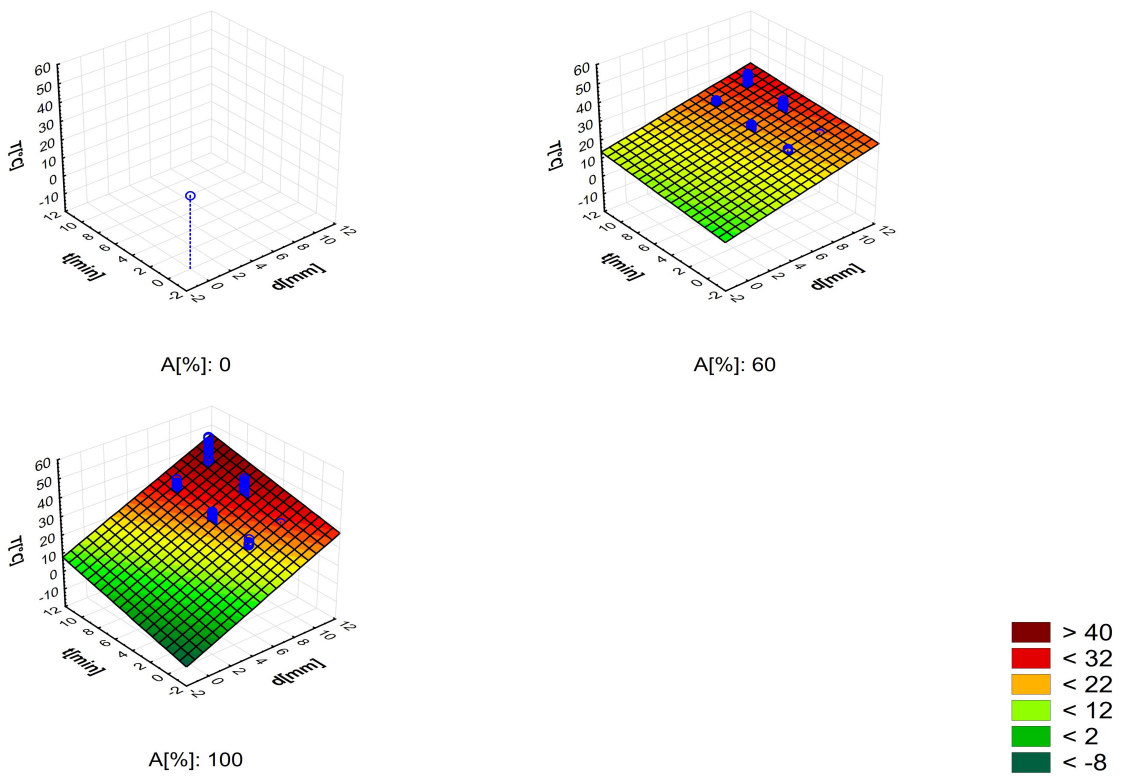
Slika 15. Grafički prikaz utjecaja vremena obrade i amplitude na promjenu **apsorbancije** (A_{740}) kategorizirano prema volumenu dodanog sezamovog ulja



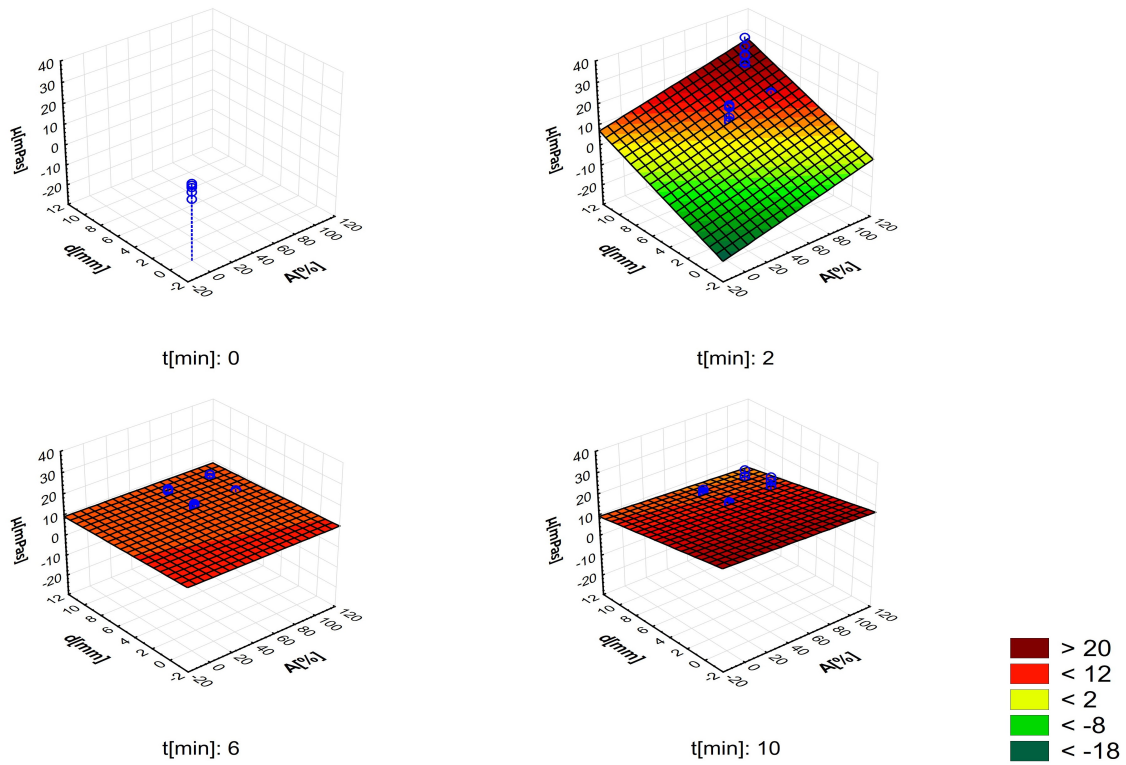
Slika 16. Grafički prikaz utjecaja vremena obrade i amplitude na promjenu **apsorbancije** (A_{740}) nakon 2 h kategorizirano prema volumenu dodanog sezamovog ulja



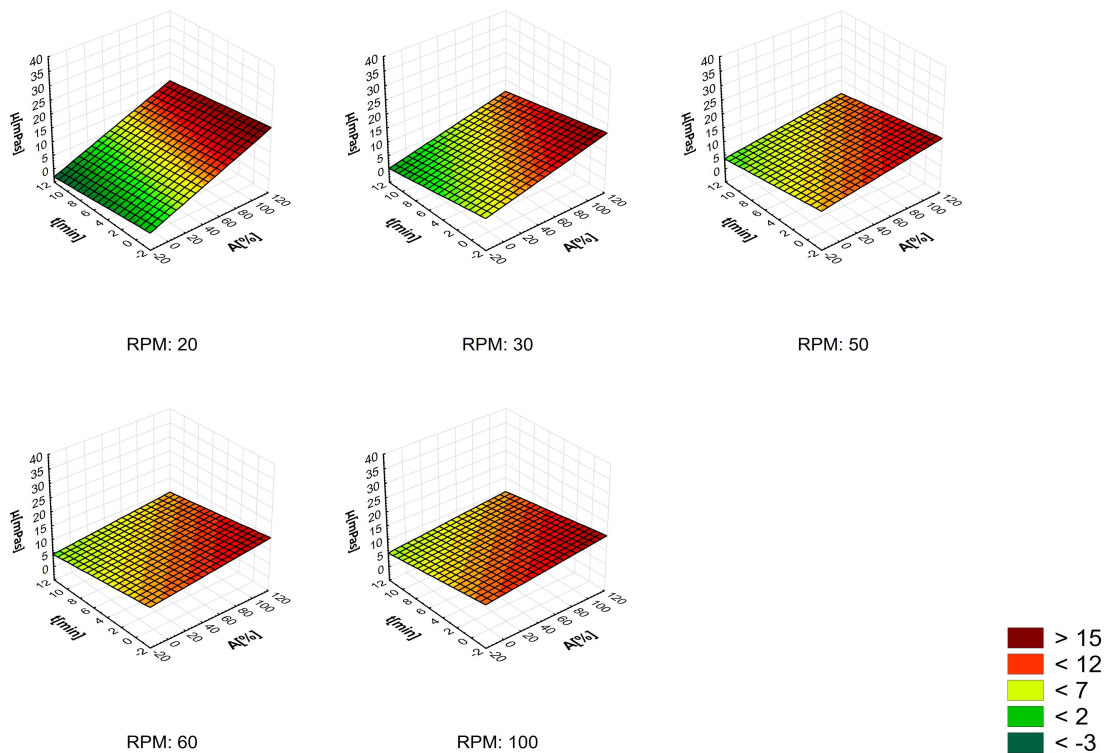
Slika 17. Grafički prikaz utjecaja vremena obrade i amplitude na promjenu **temperature** [$^{\circ}\text{C}$] kategorizirano prema promjeru sonde



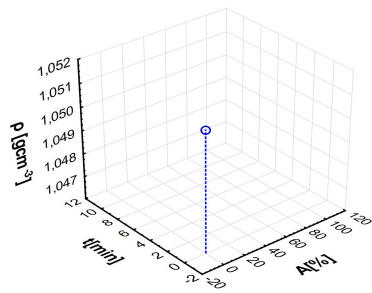
Slika 18. Grafički prikaz utjecaja vremena obrade i promjera sonde na promjenu **temperature** [$^{\circ}\text{C}$] kategorizirano prema amplitudi



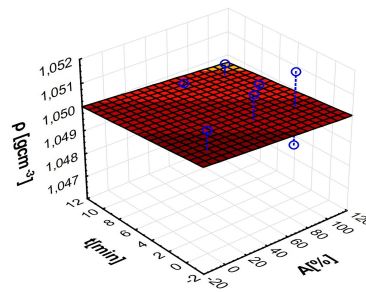
Slika 19. Grafički prikaz utjecaja promjera sonde i amplitude na promjenu viskoznosti [mPa s] kategorizirano prema vremenu obrade



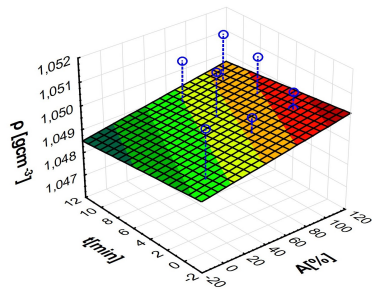
Slika 20. Grafički prikaz utjecaja vremena obrade i amplitude na promjenu viskoznosti [mPa s] kategorizirano prema brzini smicanja



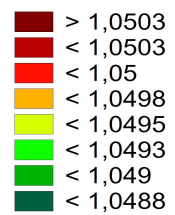
V[m]: 0



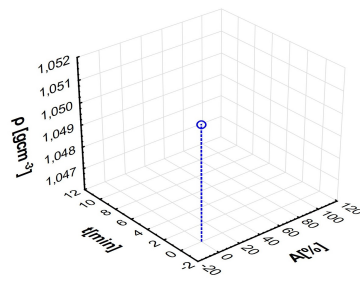
V[m]: 2



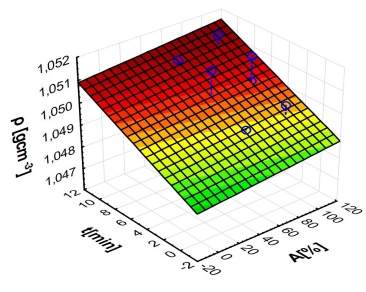
V[m]: 3



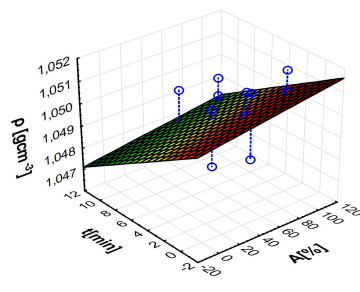
Slika 21. Grafički prikaz utjecaja vremena obrade i amplitude na promjenu gustoće [g cm^{-3}] kategorizirano prema volumenu



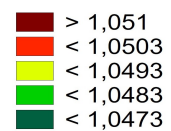
d [mm]: 0



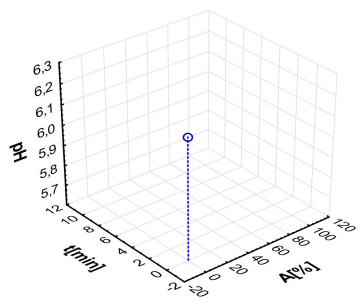
d [mm]: 7



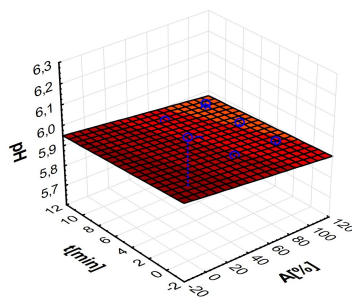
d [mm]: 10



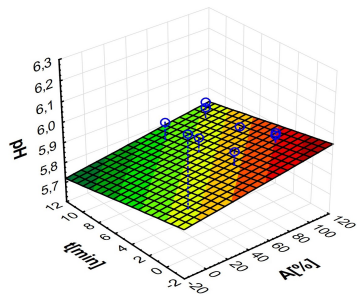
Slika 22. Grafički prikaz utjecaja vremena obrade i amplitude na promjenu gustoće [g cm^{-3}] kategorizirano prema promjeru sonde



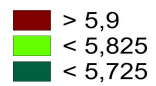
V[ml]: 0



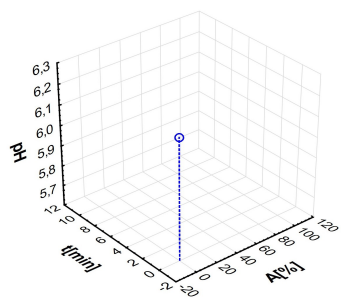
V[ml]: 2



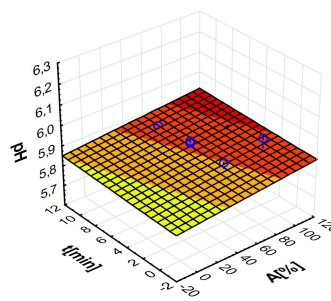
V[ml]: 3



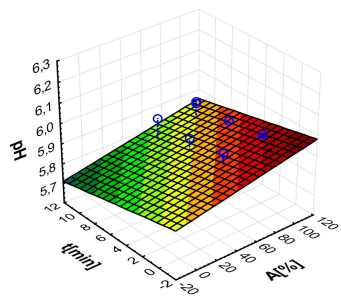
Slika 23. Grafički prikaz utjecaja vremena obrade i amplitude na promjenu **pH vrijednosti** kategorizirano prema volumenu



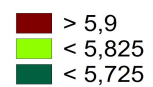
d [mm]: 0



d [mm]: 7



d [mm]: 10



Slika 24. Grafički prikaz utjecaja vremena obrade i amplitude na promjenu **pH vrijednosti** kategorizirano prema promjeru sonde

Dobivene vrijednosti apsorbancije i apsorbancije nakon 2 sata ukazuju na veliku stabilnost smoothieja obrađenih ultrazvukom visokog intenziteta (Slike 15 i 16). Ukoliko se usporede rezultati dobiveni ultrazvukom visokog intenziteta i pasterizacijom, jasno je vidljivo da se obradom smoothieja ultrazvukom postižu 2–3 puta veće vrijednosti apsorbancije i apsorbancije nakon 24 h (posebice kod uzoraka tretiranih amplitudom od 60 % u vremenskom periodu od 10 minuta, sa sondom 10 mm). Veća optička gustoća ujedno ukazuje i na bolju stabilnost smoothieja kroz dulji vremenski period. Promjer sonde, amplituda i vrijeme obrade imali su najveći utjecaj na promjenu temperature procesa obrade smoothieja. Prema očekivanom, sonda promjera 10 mm i amplituda 100 % uzrokuju povišenje temperature na 40–45 °C, dok se sa sondom promjera 7 mm i amplitudom 60 % temperaturni maksimumi zadržavaju na 30–35 °C (Slike 17 i 18). Bosiljkov i sur. (2018) također su uočili statistički značajne utjecaje amplitude, vremena obrade i promjera sonde na povišenje temperature, u njihovom slučaju, ultrazvukom tretiranog sojinog mlijeka. Što se tiče viskoznosti smoothieja, najveći utjecaj pokazuje vrijeme obrade i amplituda, tj. kraćim vremenom obrade od 2 minute dobiva se viskoznost u intervalu (-18) – 30 mPa s, dok je pri vremenu obrade od 6 i 10 minuta taj interval puno manji (Slika 19). Veća amplituda i veći promjer sonde uzrokuju porast prividne viskoznosti smoothieja. Costa i sur. (2011) dokazali su da vrijeme obrade ima obrnuto proporcionalan učinak na viskoznost. Dužim vremenom obrade postižu se niže vrijednosti viskoznosti soka. Brzina smicanja pokazala je najmanji utjecaj tijekom mjerenja prividne viskoznosti ($p > 0,05$). Pri nižim brzinama smicanja (20, 30 RPM) dolazi do porasta prividne viskoznosti (Slika 20). Gustoća smoothieja kreće se u intervalu 1,048–1,051 g cm⁻³, dok najveći utjecaj na gustoću pokazuju promjer sonde i volumen dodanog ulja. Sondom promjera 10 mm dobivaju se niže vrijednosti gustoće, budući da dolazi do većeg porasta temperature, nego sa sondom promjera 7 mm. Smoothie s volumenom dodanog ulja 0,5 mL (oznaka: V [mL] 2) ima značajno manji utjecaj na promjenu gustoće u odnosu na smoothie s volumenom dodanog ulja 1 mL (oznaka: V [mL] 3) (Slike 21 i 22). Na promjenu pH vrijednosti utjecaj imaju volumen dodanog ulja i promjer sonde. Riječ je o neznatnoj promjeni pH vrijednosti koja se kreće u intervalu 5,7–5,9. Volumen dodanog ulja 0,5 mL uzrokuje povišenje pH vrijednosti, isto kao i manji promjer sonde (7 mm) što je vidljivo na slikama 23 i 24.

Tablica 1. Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta i vremena obrade na L^* , a^* , b^* i ΔE_{ab}^* vrijednosti smoothieja uz dodatak sezamovog ulja od 1 mL

UZORAK	t/h	L^*	a^*	b^*	ΔE_{ab}^*
Referentni uzorak	0	27,64	11,08	3,09	/
	24	28,76	9,86	3,01	/
60_7_2 1 mL	0	30,2	17,08	5,06	6,81
	24	29,7	15,71	4,46	6,10
60_7_6 1 mL	0	30,17	20	6,25	9,80
	24	29,42	16,12	4,95	6,59
60_7_10 1 mL	0	30,42	21,13	7,06	11,16
	24	29,98	17,43	6	8,23
100_7_2 1 mL	0	29,6	17,24	4,2	6,56
	24	28,64	12,96	3,41	3,13
100_7_6 1 mL	0	31	22,59	7,77	12,87
	24	30,16	17,9	6,24	8,78
100_7_10 1 mL	0	30,75	21,7	7,64	11,96
	24	30,42	17,84	6,64	8,92
60_10_2 1 mL	0	29,69	18,07	4,7	7,46
	24	28,96	13,6	3,87	3,84
60_10_6 1 mL	0	30,28	19,14	6,18	8,39
	24	30,07	16,33	5,39	7,02
60_10_10 1 mL	0	31,56	21,88	7,89	12,45
	24	30,77	18,02	6,46	9,08
100_10_2 1 mL	0	30,87	20,94	6,56	10,94
	24	31,36	17,02	7,28	8,73
100_10_6 1 mL	0	31,68	24,34	10,11	15,61
	24	31,15	19,26	7,71	10,78
100_10_10 1 mL	0	33,91	26,8	10,73	18,57
	24	31,91	19,07	7,4	10,68

Tablica 2. Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta i vremena obrade na L^* , a^* , b^* i ΔE_{ab}^* vrijednosti smoothieja uz dodatak sezamovog ulja od 0,5 mL

UZORAK	t/h	L^*	a^*	b^*	ΔE_{ab}^*
Referentni uzorak	0	27,64	11,08	3,09	/
	24	28,76	9,86	3,01	/
60_7_2 0,5 mL	0	29,49	15,98	4,66	5,47
	24	29,28	12,91	3,79	3,19
60_7_6 0,5 mL	0	29,81	17,16	5,2	6,79
	24	29,24	13,66	3,94	3,94
60_7_10 0,5 mL	0	29,98	18,01	5,88	7,91
	24	29,36	14,3	4,6	4,75
100_7_2 0,5 mL	0	29,62	17,65	5,48	7,27
	24	28,73	13,75	4,04	4,02
100_7_6 0,5 mL	0	29,95	18,03	5,79	7,81
	24	29,5	14,57	4,57	5,02
100_7_10 0,5 mL	0	30,94	20,46	7,29	10,79
	24	29,99	16,12	5,66	6,91
60_10_2 0,5 mL	0	29,21	16,01	4,02	5,26
	24	29,27	13,22	4,17	3,59
60_10_6 0,5 mL	0	30,3	19,02	6,03	8,87
	24	29,83	15,38	4,69	5,87
60_10_10 0,5 mL	0	31,56	22,41	8,02	12,96
	24	30,35	17,34	5,82	8,15
100_10_2 0,5 mL	0	29,62	17,05	4,86	6,53
	24	30,33	14,97	5,8	6,03
100_10_6 0,5 mL	0	31,99	22,3	8,2	13,07
	24	31,2	17,6	6,36	8,78
100_10_10 0,5 mL	0	32,87	23,65	8,91	14,81
	24	31,91	19,07	7,4	10,68

Tablica 3. Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka i vremena obrade na L^* , a^* , b^* i ΔE_{ab}^* vrijednosti smoothieja

UZORAK	t/h	L^*	a^*	b^*	ΔE_{ab}^*
Referentni uzorak	0	27,64	11,08	3,09	/
	24	28,76	9,86	3,01	/
150_3	0	27,48	10,41	2,95	0,70
	24	27,91	10,32	2,97	0,97
150_9	0	27,51	10,3	2,47	1,00
	24	28,19	8,46	2,63	1,56
150_15	0	27,01	10,59	2,72	0,88
	24	27,64	8,75	3,09	1,58
300_3	0	27,48	10,93	3,09	0,22
	24	27,79	10,29	2,97	1,06
300_9	0	27,76	10,62	2,44	0,81
	24	28,02	8,35	2,27	1,84
300_15	0	27,95	12,18	3,01	1,15
	24	28,72	9,72	3,05	0,15
450_3	0	27,28	11,13	3,19	0,38
	24	27,71	10,13	2,96	1,09
450_9	0	27,85	12,04	2,9	1,00
	24	28,73	9,2	3,01	0,66
450_15	0	28,02	11,5	2,69	0,69
	24	28,52	8,4	2,59	1,54

Tablica 4. Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka i vremena obrade na L^* , a^* , b^* i ΔE_{ab}^* vrijednosti smoothieja uz dodatak sezamovog ulja od 1 mL

UZORAK	t/h	L^*	a^*	b^*	ΔE_{ab}^*
Referentni uzorak	0	27,64	11,08	3,09	/
	24	28,76	9,86	3,01	/
150_3 1 mL	0	28,12	12,64	3,66	1,73
	24	28,36	11,15	3,28	1,38
150_9 1 mL	0	27,88	11,88	3,35	0,87
	24	29,05	10,26	3,24	0,54
150_15 1 mL	0	28,23	12,98	3,75	2,10
	24	28,69	10,92	3,27	1,09
300_3 1 mL	0	27,11	13,56	3,39	2,55
	24	27,89	10,35	2,68	1,05
300_9 1 mL	0	28,63	14,22	3,95	3,40
	24	28,83	11,91	3,4	2,09
300_15 1 mL	0	29,23	15,93	4,68	5,35
	24	29,47	13,36	4,07	3,73
450_3 1 mL	0	28,89	14,37	3,91	3,61
	24	29,3	11,28	3,51	1,60
450_9 1 mL	0	29,12	14,13	3,8	3,46
	24	29,52	10,81	3,44	1,29
450_15 1 mL	0	28,6	13,89	3,74	3,04
	24	28,84	10,54	3,11	0,69

Tablica 5. Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka i vremena obrade na L^* , a^* , b^* i ΔE_{ab}^* vrijednosti smoothieja uz dodatak sezamovog ulja od 0,5 mL

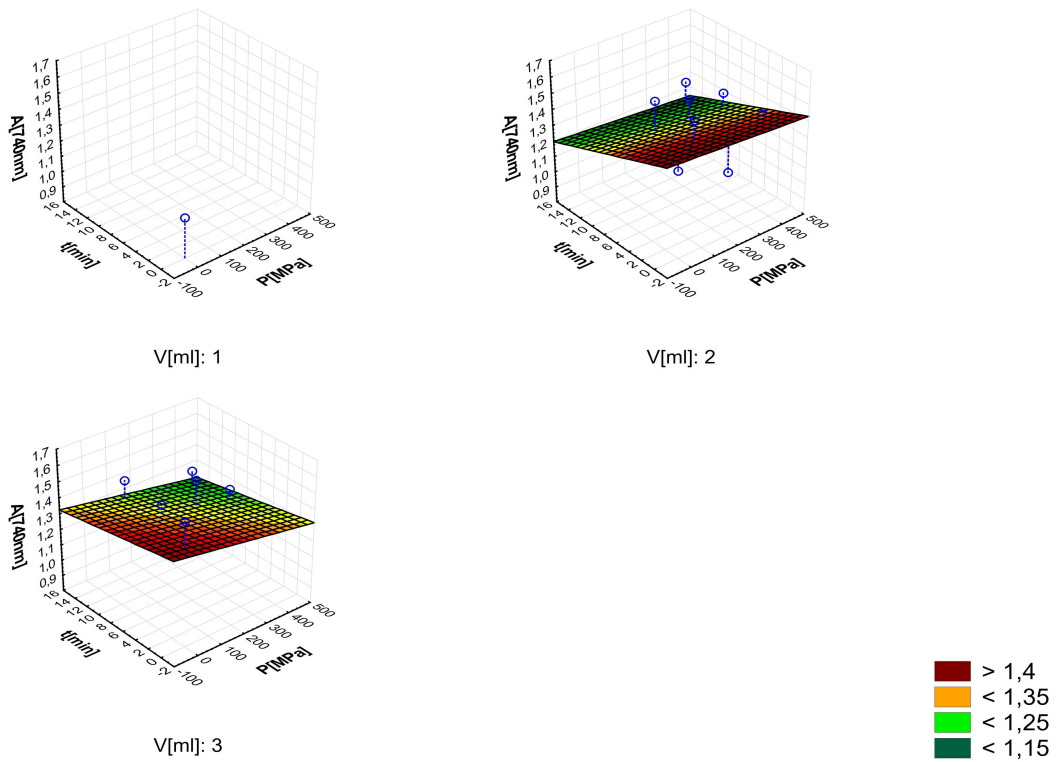
UZORAK	t/h	L^*	a^*	b^*	ΔE_{ab}^*
Referentni uzorak	0	27,64	11,08	3,09	/
	24	28,76	9,86	3,01	/
150_3 0,5 mL	0	27,63	11,53	2,99	0,46
	24	28,3	10,39	2,8	0,73
150_9 0,5 mL	0	27,93	11,92	3,15	0,89
	24	28,29	10,85	2,85	1,11
150_15 0,5 mL	0	28,31	12,72	3,35	1,79
	24	28,71	10,53	2,84	0,69
300_3 0,5 mL	0	28,61	13,74	3,69	2,89
	24	1,05	7,12	1,74	26,92
300_9 0,5 mL	0	28,74	14,47	4,2	3,73
	24	28,85	12,3	3,63	2,52
300_15 0,5 mL	0	29,05	15,77	4,62	5,13
	24	29,36	13,22	4,1	3,58
450_3 0,5 mL	0	28,79	14,61	4,11	3,85
	24	28,84	11,6	3,45	1,80
450_9 0,5 mL	0	28,65	14,7	4,16	3,91
	24	28,55	11,36	3,38	1,56
450_15 0,5 mL	0	28,35	13,05	3,43	2,12
	24	28,64	10,67	3,03	0,82

Tablica 6. Utjecaj pasterizacije i vremena obrade na L^* , a^* , b^* i ΔE_{ab}^* vrijednosti smoothieja

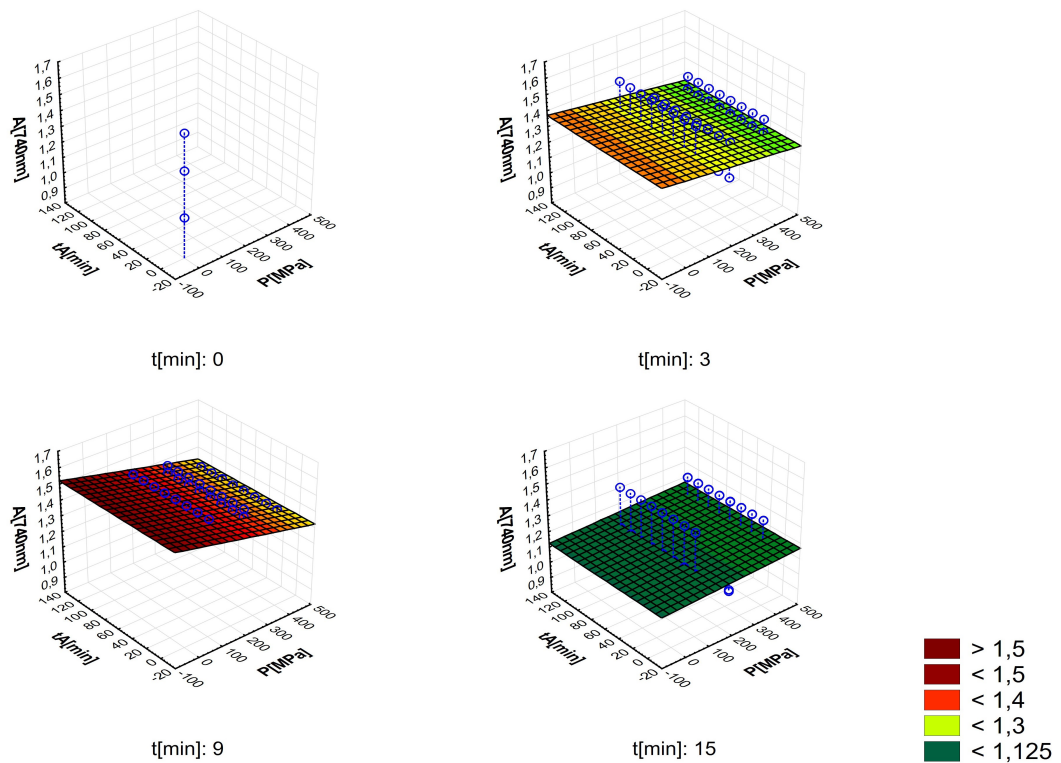
UZORAK	t/h	L^*	a^*	b^*	ΔE_{ab}^*
Referentni uzorak	0	27,64	11,08	3,09	/
	24	28,76	9,86	3,01	/
bez ulja	0	29,51	16,39	5,48	6,12
	24	29,06	15,12	3,95	5,35
0,5 mL	0	29,45	15,96	5,06	5,57
	24	29,68	16,22	4,48	6,59
1 mL	0	28,51	13,99	4,16	3,22
	24	29,34	15,6	4,24	5,90

U tablicama 1 – 6 prikazane su dobivene vrijednosti parametara boje uzoraka smoothieja, tj. L^* , a^* i b^* vrijednosti, dok je u zadnjem stupcu prikazana izračunata vrijednost ΔE_{ab}^* . Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na boju smoothieja prikazan je u prve dvije tablice, u kojima je vidljiv pad L^* , a^* i b^* vrijednosti u vremenskom periodu od 24 sata, dok je kod netretiranog uzorka došlo do blagog porasta L^* (lightness) vrijednosti. Kada se uspoređuju rezultati tretiranih uzoraka s netretiranim uzorkom dolazi do značajnog porasta a^* i b^* vrijednosti, te nešto nižeg porasta L^* vrijednosti. Buniowska i sur. (2019) zaključili su da nakon provedene ultrazvučne obrade smoothieja nije došlo do značajnih promjena a^* i b^* parametara boje, dok je došlo do blagog porasta L^* vrijednosti. Zenker i sur. (2003) također su zabilježili rast L^* vrijednosti kod tretiranog soka od naranče. Iz tablica 3 - 6 može se očitati kako dolazi do blagog porasta L^* vrijednosti u vremenskom periodu od 24 sata kod netretiranog uzorka, ali i kod uzoraka tretiranih visokim hidrostatskim tlakom i pasterizacijom. Visoki hidrostatski tlak ima manji utjecaj na L^* vrijednost u odnosu na termalnu obradu pasterizacijom, gdje je došlo do nešto većeg porasta L^* vrijednosti s obzirom na netretirani uzorak. Isto su dokazali Andreas i sur. (2016) obradom smoothieja pri tlakovima od 450 MPa/ 3 min/20 °C i 600 MPa/ 3 min/20 °C i pasterizacijom na 80 °C/3 min. Do smanjena kromatske varijable a^* dolazi kod netretiranih i tretiranih uzoraka smoothieja, s dodatkom ulja od 0,5 mL, 1 mL, te u uzorcima bez ulja. Andreas i sur. (2016) također su dokazali smanjenje a^* vrijednosti obradom smoothieja visokim hidrostatskim tlakom. Varela – Santos i sur. (2012) primjenom visokog hidrostatskog tlaka (350 – 550 MPa) na sok od nara, došli su do sličnih rezultata smanjenja a^* vrijednosti. Općenito, do diskoloracije, odnosno gubitka crvene boje može doći kao posljedica aktivnosti zaostalih enzima, što u

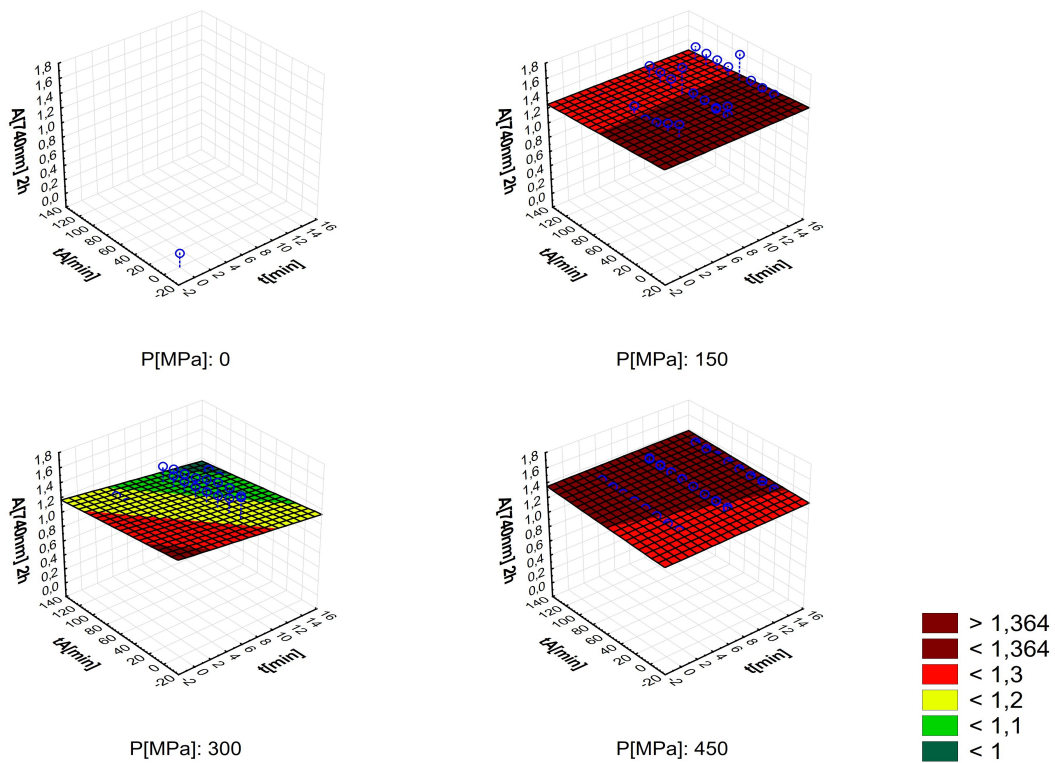
konačnici dovodi do enzimatskog posmeđivanja fenolnih spojeva (Huang i sur., 2013). b^* vrijednost kod netretiranih uzoraka ostala je gotovo nepromijenjena, dok je kod uzoraka tretiranih visokim hidrostatskim tlakom i pasterizacijom uočen blagi pad vrijednosti u vremenskom periodu od 24 h. Kod obrade smoothieja pasterizacijom dobivaju se veće b^* vrijednosti u usporedbi s netretiranim uzorcima, što je uočeno i kod Barba i sur. (2011) na soku od naranče pomiješanim s mlijekom tretiranim visokim hidrostatskim tlakom (100–400 MPa) i pasterizacijom (90–98 °C/15-20 s). Ukupna promjena boje (ΔE_{ab}^*) definira razliku u boji između tretiranih i netretiranih uzoraka odmah nakon obrade i nakon 24 sata. Razlika u boji može se analitički klasificirati u 5 skupina; nije uočljiva (0–0,5), blago uočljiva (0,5–1,5), primjetna (1,5–3,0), vidljivo (3,0–6,0) i jasno uočljivo (6,0–12,0) (Andreas i sur., 2016). Ukupna promjena boje najveća je kod uzoraka obrađenih ultrazvukom visokog intenziteta s dodatkom ulja od 1 mL i 0,5 mL, upola manja promjena boje uočena je kod toplinski obrađenih uzoraka, dok je najmanja ujedno i najbolja ukupna promjena boje dobivena kod uzoraka tretiranih visokim hidrostatskim tlakom.



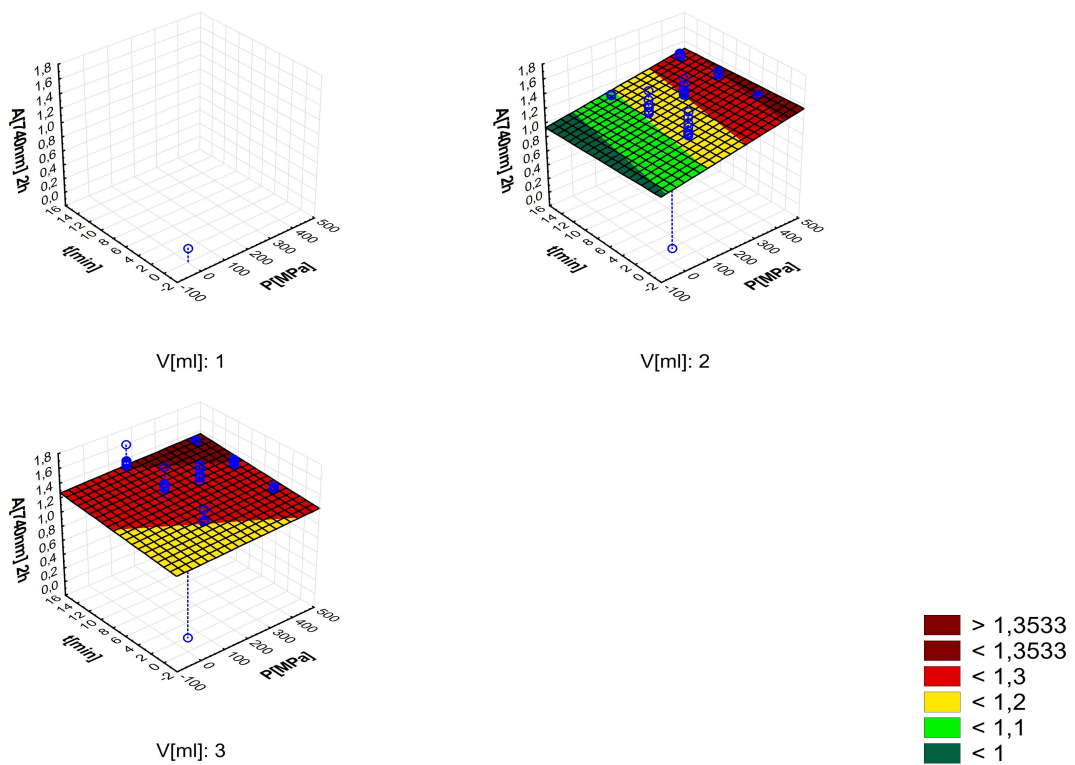
Slika 25. Grafički prikaz utjecaja vremena obrade i visokog hidrostatskog tlaka na apsorbanciju (A_{740}) kategorizirano prema volumenu ulja



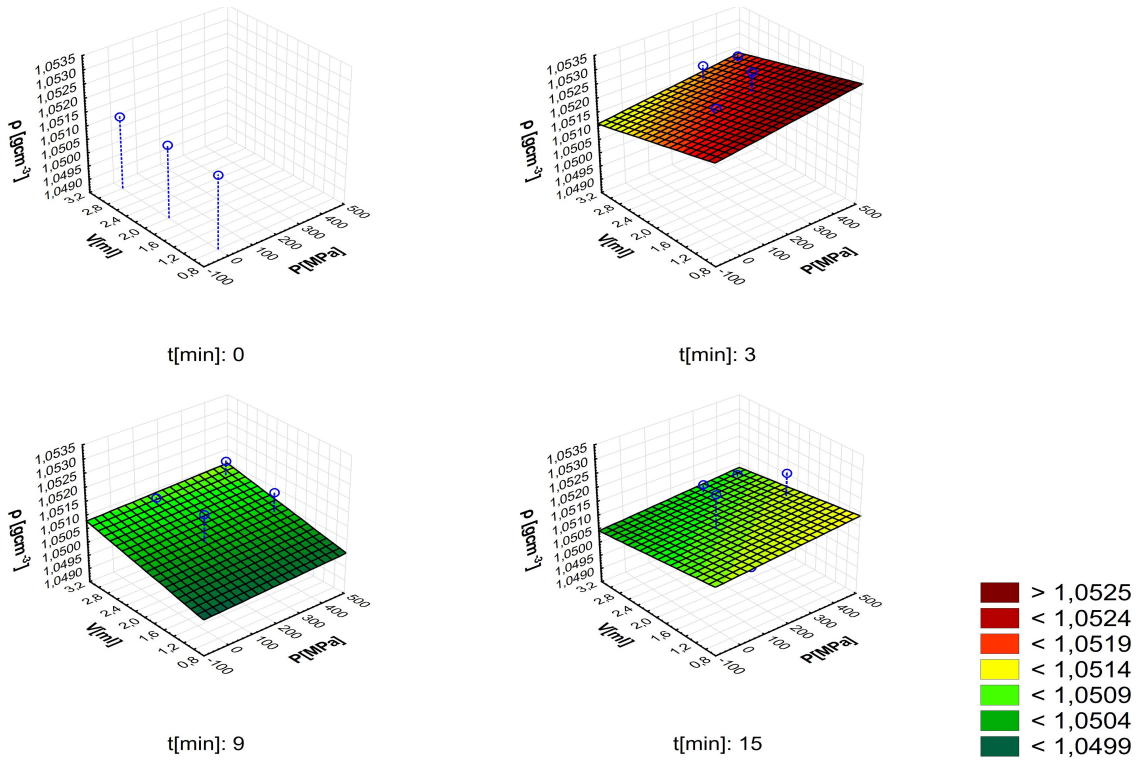
Slika 26. Grafički prikaz utjecaja intervalnog vremena obrade i visokog hidrostatskog tlaka na apsorbanciju (A_{740}) kategorizirano prema vremenu obrade



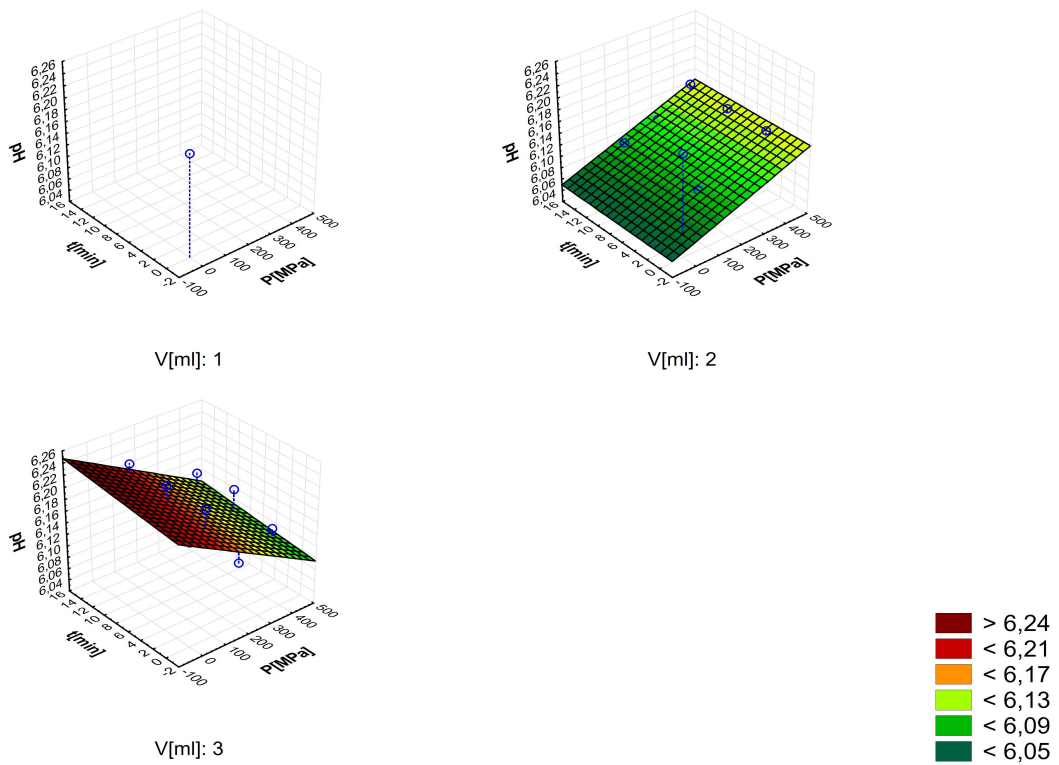
Slika 27. Grafički prikaz utjecaja intervalnog vremena obrade i vremena obrade na promjenu apsorbancije (A_{740}) nakon 2 h kategorizirano prema visokom hidrostatskom tlaku



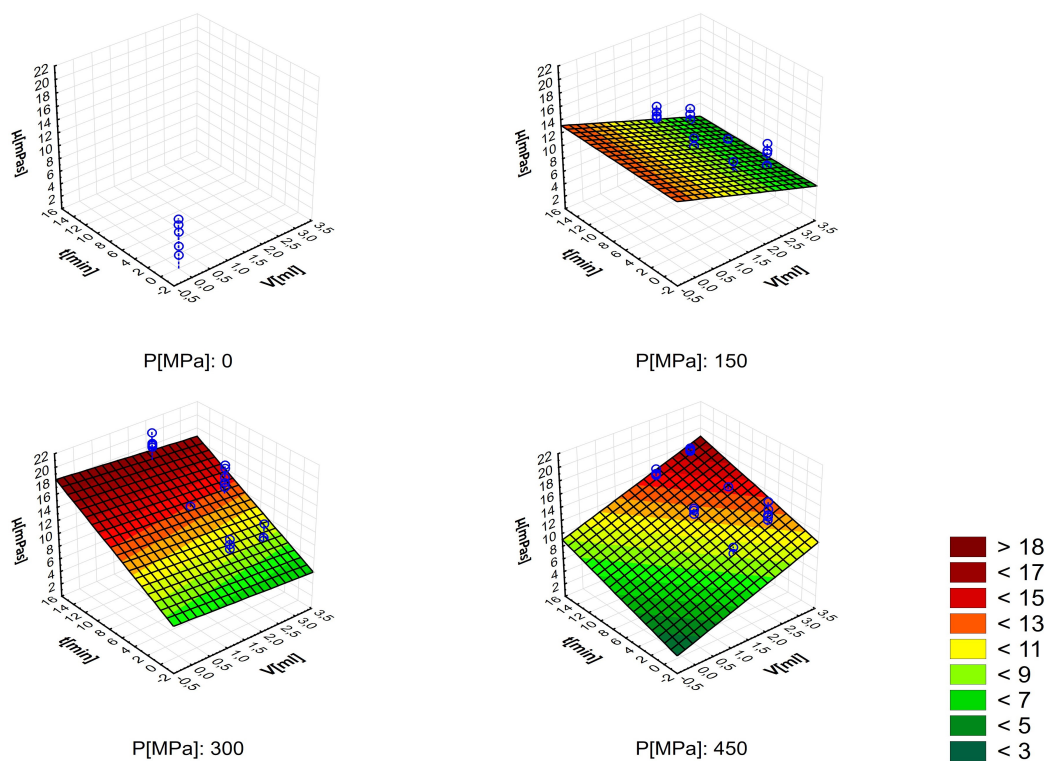
Slika 28. Grafički prikaz utjecaja vremena obrade i visokog hidrostatskog tlaka na promjenu apsorbancije (A_{740}) nakon 2 h kategorizirano prema volumenu ulja



Slika 29. Grafički prikaz utjecaja volumena ulja i visokog hidrostatskog tlaka na promjenu gustoće [g cm^{-3}] kategorizirano prema vremenu obrade



Slika 30. Grafički prikaz utjecaja vremena obrade i visokog hidrostatskog tlaka na pH vrijednost kategorizirano prema volumenu ulja



Slika 31. Grafički prikaz utjecaja vremena obrade i volumena ulja na promjenu **viskoznosti [mPa s]** kategorizirano prema visokom hidrostatskom tlaku

Najveći utjecaj na apsorbanciju (A_{740}) neposredno nakon obrade imaju vrijeme obrade i visoki hidrostatski tlak, tj. kraće vrijeme obrade i niži tlakovi uzrokuju porast apsorbancije, dok volumen dodanog ulja i intervalno vrijeme obrade imaju proporcionalan učinak na porast apsorbancije. S druge strane, utjecaj viših vrijednosti visokog hidrostatskog tlaka i volumena ulja, te intervalnog vremena obrade i vremena obrade rezultira povećanjem vrijednosti apsorbancije (A_{740}) nakon 2 h (Slike 25–28). Uspoređujući dobivene rezultate visokog hidrostatskog tlaka i pasterizacije s referentnim uzorkom, kod uzoraka obrađenih pasterizacijom s dodatkom sezamovog ulja od 0,5 i 1 mL dolazi do značajnog pada vrijednosti apsorbancije i apsorbancije nakon 24 h, dok su kod visokog hidrostatskog tlaka zabilježene vrijednosti apsorbancije podjednake vrijednostima referentnog uzorka, a nakon 24 h čak i bolje. Kao što je vidljivo na slici 29 kraće vrijeme obrade i manji volumen ulja rezultiraju nešto većim vrijednostima gustoće smoothieja, dok su viši hidrostatski tlakovi proporcionalni porastu gustoće. Što se tiče pH vrijednosti obrađenog smoothieja, ona raste najviše dodatkom volumena ulja (1 mL), pri čemu je postignuti maksimalni pH > 6,24. Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka i intervalnog vremena obrade smoothieja obrnuto je proporcionalno porastu pH vrijednosti (Slika 30). Tijekom obrade smoothieja visokim hidrostatskim tlakom

ne dolazi do statistički značajnih promjena pH vrijednosti kada se usporede obrađeni i neobrađeni uzorci (Hurtado i sur., 2015; Putnik i sur., 2019). Na porast prividne viskoznosti najveći utjecaj ima povećanje visokog hidrostatskog tlaka i vrijeme obrade (Slika 31). Brzina smicanja također ima proporcionalan učinak na prividnu viskoznost, dok volumen ulja nema značajan utjecaj na promjenu viskoznost smoothieja. Hurtado i sur. (2015) primijetili su porast viskoznosti voćnog smoothieja porastom hidrostatskih tlakova. Promatrajući obradu smoothieja pasterizacijom i netoplinskim tehnologijama, vrijednosti dobivenih rezultata pH, gustoće i viskoznosti nisu se značajno razlikovali.

Tablica 7. Praćenje mikrobiološke kvalitete smoothieja obrađenog ultrazvukom visokog intenziteta uz volumen ulja 1 mL

UZORAK	DAN	<i>Salmonella</i> <i>sp.</i>	<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>	Aerobne mezofilne bakterije	Enterobakterije	Kvasci	Plijesni
Referentni uzorak	0	n.d.	n.d.	$2 \cdot 10^3$	n.d.	$4 \cdot 10^{3***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^4$	n.d.	$3,7 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$4,7 \cdot 10^{8***}$	n.d.
60_7_2 1 mL	0	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^4$	n.d.	$1 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{6*}$	n.d.	$3,5 \cdot 10^{6***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$9 \cdot 10^{7***}$	n.d.
60_7_6 1 mL	0	n.d.	n.d.	$1,9 \cdot 10^{4*}$	n.d.	$1 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^{6*}$	n.d.	$1 \cdot 10^{7***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$2 \cdot 10^{10*}$	n.d.	$8 \cdot 10^{9***}$	n.d.
60_7_10 1 mL	0	n.d.	n.d.	$4 \cdot 10^3$	n.d.	$3 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$1,2 \cdot 10^{6***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{9*}$	n.d.	$4,5 \cdot 10^{8***}$	n.d.
100_7_2 1 mL	0	n.d.	n.d.	$4 \cdot 10^{4*}$	n.d.	$5 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$5 \cdot 10^{6*}$	n.d.	$3 \cdot 10^{6***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$1 \cdot 10^{7***}$	n.d.
100_7_6 1 mL	0	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^4$	n.d.	$1,2 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$3,2 \cdot 10^{5*}$	n.d.	$5 \cdot 10^{7***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$4,4 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$3 \cdot 10^{9***}$	n.d.
100_7_10 1 mL	0	n.d.	n.d.	$2,4 \cdot 10^3$	n.d.	$1 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$3,8 \cdot 10^{5*}$	n.d.	$3 \cdot 10^{7***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$7 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$6 \cdot 10^{9***}$	n.d.
60_10_2 1 mL	0	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{4*}$	n.d.	$1 \cdot 10^{5***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^{6*}$	n.d.	$1 \cdot 10^{7***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{8*}$	n.d.	$1 \cdot 10^{8***}$	n.d.
60_10_6 1 mL	0	n.d.	n.d.	$6,5 \cdot 10^3$	n.d.	$5 \cdot 10^{3***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$8 \cdot 10^3$	n.d.	$2 \cdot 10^{8***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$6 \cdot 10^{8***}$	n.d.
60_10_10 1 mL	0	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^3$	n.d.	$3 \cdot 10^{3***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^4$	n.d.	$3 \cdot 10^{8***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$1,6 \cdot 10^{8*}$	n.d.	$5,5 \cdot 10^{8***}$	n.d.
100_10_2 1 mL	0	n.d.	n.d.	$5 \cdot 10^{4*}$	n.d.	$4 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$4 \cdot 10^{6*}$	n.d.	$3 \cdot 10^{7***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$4 \cdot 10^{7***}$	n.d.
100_10_6 1 mL	0	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^3$	n.d.	$1 \cdot 10^3$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$4,9 \cdot 10^3$	n.d.	$4,5 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$5 \cdot 10^{8***}$	n.d.
100_10_10 1 mL	0	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^2$	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$4,1 \cdot 10^{5*}$	n.d.	$6 \cdot 10^{7***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$2 \cdot 10^{9***}$	n.d.

n.d.-nije detektirano

* ne zadovoljava kriterije $< 10^4$ CFU mL⁻¹

** ne zadovoljava kriterije $< 10^2$ CFU mL⁻¹

*** ne zadovoljava kriterije $< 10^3$ CFU mL⁻¹

Tablica 8. Praćenje mikrobiološke kvalitete smoothieja obrađenog ultrazvukom visokog intenziteta uz volumen ulja 0,5 mL

UZORAK	DAN	Salmonella sp.	Listeria monocytogenes	Aerobne mezofilne bakterije	Enterobakterije	Kvasci	Plijesni
Referentni uzorak	0	n.d.	n.d.	$2 \cdot 10^3$	n.d.	$4 \cdot 10^{3***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^4$	n.d.	$3,7 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$4,7 \cdot 10^{8***}$	n.d.
60_7_2 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$3,8 \cdot 10^{6*}$	n.d.	$4 \cdot 10^{6***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$1 \cdot 10^{7***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$1,3 \cdot 10^{8***}$	n.d.
60_7_6 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{5*}$	n.d.	$2 \cdot 10^{5***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$5,1 \cdot 10^{6*}$	n.d.	$1 \cdot 10^{7***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$5 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$1 \cdot 10^{8***}$	$1 \cdot 10^{7***}$
60_7_10 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^{5*}$	n.d.	$3 \cdot 10^{5***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$2 \cdot 10^{6*}$	n.d.	$1 \cdot 10^{8***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$4 \cdot 10^{8*}$	n.d.	$7,8 \cdot 10^{8***}$	n.d.
100_7_2 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^{5*}$	n.d.	$1 \cdot 10^{5***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$4 \cdot 10^{7***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$2 \cdot 10^{8*}$	n.d.	$2,5 \cdot 10^{8***}$	n.d.
100_7_6 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$1,3 \cdot 10^{6*}$	n.d.	$2 \cdot 10^{6***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$8 \cdot 10^{6*}$	n.d.	$7,4 \cdot 10^{7***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$2 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$1,6 \cdot 10^{8***}$	n.d.
100_7_10 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$6 \cdot 10^{5*}$	n.d.	$1 \cdot 10^{5***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$1 \cdot 10^{8***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$1,9 \cdot 10^{8*}$	n.d.	$2,9 \cdot 10^{8***}$	n.d.
60_10_2 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$4 \cdot 10^{4*}$	n.d.	$5 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$7,1 \cdot 10^{6*}$	n.d.	$2 \cdot 10^{7***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$2 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$2 \cdot 10^{8***}$	n.d.
60_10_6 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^4$	n.d.	$1,1 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$3,4 \cdot 10^{5*}$	n.d.	$6 \cdot 10^{8***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$4,5 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$8,7 \cdot 10^{8***}$	n.d.
60_10_10 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$4 \cdot 10^3$	n.d.	$3 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$2,9 \cdot 10^{8***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^{8*}$	n.d.	$9 \cdot 10^{8***}$	n.d.
100_10_2 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$2 \cdot 10^{4*}$	n.d.	$1 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$4 \cdot 10^{6*}$	n.d.	$7,1 \cdot 10^{6***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$4 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$2 \cdot 10^{7***}$	n.d.
100_10_6 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$6 \cdot 10^3$	n.d.	$1,3 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$6,7 \cdot 10^{8***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$5 \cdot 10^{8*}$	n.d.	$1 \cdot 10^{9***}$	n.d.
100_10_10 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$2,1 \cdot 10^{5*}$	n.d.	$7 \cdot 10^{7***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$6 \cdot 10^{8*}$	n.d.	$5 \cdot 10^{9***}$	n.d.

n.d.-nije detektirano

* ne zadovoljava kriterije $< 10^4$ CFU mL⁻¹

** ne zadovoljava kriterije $< 10^2$ CFU mL⁻¹

*** ne zadovoljava kriterije $< 10^3$ CFU mL⁻¹

Tablica 9. Praćenje mikrobiološke kvalitete smoothieja obrađenog visokim hidrostatskim tlakom uz volumen ulja 1 mL

UZORAK	DAN	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>	Aerobne mezofilne bakterije	Enterobakterije	Kvasci	Plijesni
Referentni uzorak	0	n.d.	n.d.	$2 \cdot 10^3$	n.d.	$4 \cdot 10^{3***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^4$	n.d.	$3,7 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$4,7 \cdot 10^{8***}$	n.d.
150/3' 1 mL	0	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{4*}$	n.d.	$3 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$4 \cdot 10^{6*}$	$3 \cdot 10^{7**}$	$4 \cdot 10^{6***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$1,8 \cdot 10^{8*}$	$4 \cdot 10^{8**}$	$1,7 \cdot 10^{8***}$	n.d.
150/9' 1 mL	0	n.d.	n.d.	$2 \cdot 10^{4*}$	n.d.	$2,8 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$4,1 \cdot 10^{6*}$	$3 \cdot 10^{7**}$	$5 \cdot 10^{6***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$7,8 \cdot 10^{7*}$	$5 \cdot 10^{8*}$	$1,7 \cdot 10^{8***}$	n.d.
150/15' 1 mL	0	n.d.	n.d.	$1,2 \cdot 10^{4*}$	n.d.	$1,7 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$1,6 \cdot 10^{7*}$	$5 \cdot 10^{5**}$	$2,6 \cdot 10^{6***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$1,3 \cdot 10^{8*}$	$4 \cdot 10^{7**}$	$1,5 \cdot 10^{8***}$	n.d.
300/3' 1 mL	0	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^2$	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	14	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
300/9' 1 mL	0	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^2$	n.d.	$2 \cdot 10^2$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^3$	n.d.	$2 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$1,7 \cdot 10^{4*}$	n.d.	$2,6 \cdot 10^{4***}$	n.d.
300/15' 1 mL	0	n.d.	n.d.	$2 \cdot 10^2$	n.d.	$4 \cdot 10^2$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^3$	n.d.	$5 \cdot 10^{3***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$1,6 \cdot 10^{6*}$	n.d.	$1,2 \cdot 10^{6***}$	n.d.
450/3' 1 mL	0	n.d.	n.d.	$6 \cdot 10^1$	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$4 \cdot 10^1$	n.d.	n.d.	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$6,7 \cdot 10^1$	n.d.	n.d.	n.d.
450/9' 1 mL	0	n.d.	n.d.	$5 \cdot 10^1$	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^2$	n.d.	n.d.	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$5,1 \cdot 10^2$	n.d.	n.d.	n.d.
450/15' 1 mL	0	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^1$	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$4 \cdot 10^2$	n.d.	n.d.	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$6 \cdot 10^2$	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.-nije detektirano

* ne zadovoljava kriterije $< 10^4$ CFU mL⁻¹

** ne zadovoljava kriterije $< 10^2$ CFU mL⁻¹

*** ne zadovoljava kriterije $< 10^3$ CFU mL⁻¹

Tablica 10. Praćenje mikrobiološke kvalitete smoothieja obrađenog visokim hidrostatskim tlakom uz volumen ulja 0,5 mL

UZORAK	DAN	<i>Salmonella</i> <i>sp.</i>	<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>	Aerobne mezofilne bakterije	Enterobakterije	Kvasci	Plijesni
Referentni uzorak	0	n.d.	n.d.	$2 \cdot 10^3$	n.d.	$4 \cdot 10^{3***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^4$	n.d.	$3,7 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$4,7 \cdot 10^{8***}$	n.d.
150/3' 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^{4*}$	$1,2 \cdot 10^{3**}$	$1,9 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$7 \cdot 10^{5*}$	$5 \cdot 10^{5**}$	$7 \cdot 10^{7***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$5,6 \cdot 10^{6*}$	$6,3 \cdot 10^{6**}$	$4,6 \cdot 10^{8***}$	n.d.
150/9' 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$1,1 \cdot 10^{4*}$	$6 \cdot 10^{2**}$	$2,4 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$1,2 \cdot 10^{5*}$	$1,9 \cdot 10^{5**}$	$5,6 \cdot 10^{6***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$3,7 \cdot 10^{6*}$	$5 \cdot 10^{6**}$	$3,1 \cdot 10^{8***}$	n.d.
150/15' 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$1,4 \cdot 10^{4*}$	$5 \cdot 10^{2**}$	$1,6 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^{6*}$	$4,1 \cdot 10^{5**}$	$4,6 \cdot 10^{7***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$8,7 \cdot 10^{8*}$	$4 \cdot 10^{6**}$	$4,3 \cdot 10^{9***}$	n.d.
300/3' 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^4$	n.d.	n.d.	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$3,4 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$1 \cdot 10^{5***}$	n.d.
300/9' 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$3,2 \cdot 10^2$	n.d.	$2,7 \cdot 10^2$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$6 \cdot 10^2$	n.d.	$7 \cdot 10^2$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$8,4 \cdot 10^2$	n.d.	$9,2 \cdot 10^2$	n.d.
300/15' 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^2$	n.d.	$3 \cdot 10^2$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$2,5 \cdot 10^2$	n.d.	$6 \cdot 10^2$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$6,4 \cdot 10^2$	n.d.	$8,4 \cdot 10^2$	n.d.
450/3' 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$5 \cdot 10^1$	n.d.	n.d.	n.d.
450/9' 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^2$	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$8 \cdot 10^2$	n.d.	n.d.	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$9,2 \cdot 10^2$	n.d.	n.d.	n.d.
450/15' 0,5 mL	0	n.d.	n.d.	$3,4 \cdot 10^2$	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$6 \cdot 10^2$	n.d.	n.d.	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$8,3 \cdot 10^2$	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.-nije detektirano

* ne zadovoljava kriterije $< 10^4$ CFU mL⁻¹

** ne zadovoljava kriterije $< 10^2$ CFU mL⁻¹

*** ne zadovoljava kriterije $< 10^3$ CFU mL⁻¹

Tablica 11. Praćenje mikrobiološke kvalitete smoothieja obrađenog pasterizacijom

UZORAK	DAN	<i>Salmonella</i> <i>sp.</i>	<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>	Aerobne mezofilne bakterije	Enterobakterije	Kvasci	Plijesni
Referentni uzorak	0	n.d.	n.d.	$2 \cdot 10^3$	n.d.	$4 \cdot 10^{3***}$	n.d.
	7	n.d.	n.d.	$1 \cdot 10^4$	n.d.	$3,7 \cdot 10^{4***}$	n.d.
	14	n.d.	n.d.	$3 \cdot 10^{7*}$	n.d.	$4,7 \cdot 10^{8***}$	n.d.
85 °C/5' bez ulja	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	14	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
85 °C/5' 0.5 mL	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	14	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
85 °C/5' 1 mL	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	14	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.-nije detektirano

* ne zadovoljava kriterije $< 10^4$ CFU mL⁻¹

** ne zadovoljava kriterije $< 10^2$ CFU mL⁻¹

*** ne zadovoljava kriterije $< 10^3$ CFU mL⁻¹

Pravilnikom o mikrobiološkim kriterijima za hranu (NN 74/2008) utvrđene su granice koje zadovoljavaju odnosno ne zadovoljavaju kriterije sigurnosti proizvoda od voća i povrća. Pravilnik je donesen na temelju Zakona o hrani (NN br. 46/07) i usklađen je s Uredbom (EZ-a) 2073/2005 o mikrobiološkim kriterijima za hranu (Pravilnik, 2008). Na temelju dobivenih rezultata mikrobiološke analize (Tablice 7–11) može se uočiti da u smoothiejima obrađenima ultrazvukom visokog intenziteta, visokim hidrostatskim tlakom, te pasterizacijom nisu prisutne bakterije *Salmonella sp.* i *Listeria monocytogenes*. Također u smoothiejima koji su obrađeni ultrazvukom visokog intenziteta i pasterizacijom nisu prisutne enterobakterije, dok su plijesni prisutne samo u jednom uzorku koji je bio tretiran ultrazvukom visokog intenziteta. Do pojave plijesni došlo je nakon 14 dana u uzorku koji je bio tretiran pri amplitudi od 60 %, s promjerom sonde od 7 mm u vremenskom periodu od 6 minuta i volumenom ulja od 0,5 mL. Budući da u niti jednom drugom uzorku nije došlo do pojave plijesni, moguće da je došlo kontaminacije tijekom nacjepljivanja hranjivih podloga ili uslijed nepravilnog skladištenja.

Uzorci koji su tretirani ultrazvukom visokog intenziteta u velikoj mjeri ne zadovoljavaju mikrobiološke kriterije. Iako nema prisutnih gram pozitivnih bakterija i enterobakterija, ni plijesni, ipak su u prevelikim količinama prisutne aerobne mezofilne bakterije i kvasci. Potencijalno mogući tretman ultrazvukom jest pri amplitudi od 100 %, s promjerom sonde od 10 mm i vremenskim periodom obrade od 10 minuta. Do nezadovoljavajućeg mikrobiološkog

rezultata došli su i Piyasena i sur. (2003) gdje su u provedenom istraživanju zaključili da sama upotreba ultrazvuka u prehrambenoj industriji za inaktivaciju mikroorganizama je neprovediva. Ukoliko bi se ultrazvuk koristio u kombinaciji s visokim hidrostatskim tlakom ili toplinskom obradom, rezultati bi bili mikrobiološki prihvatljivi (Piyasena i sur., 2003). Khandpur i Gogate (2016) su proveli istraživanje utjecaja ultrazvuka na smoothie u kombinaciji s ultraljubičastim zračenjem, gdje su postigli zadovoljavajuće rezultate, tj. mikrobiološke kriterije. Jačina korištenog ultrazvuka bila je 20 kHz, 100 W, dok je vrijeme tretiranja bilo 15 minuta, a temperatura ispod 30 °C.

Kod smoothieja koji su bili tretirani visokim hidrostatskim tlakom, prisutnost enterobakterija je nešto veća u odnosu na potpunu odsutnost u smoothiejima tretiranim ultrazvukom i pasterizacijom. Aerobne mezofilne bakterije prisutne su i kod uzoraka tretiranih ultrazvukom i visokim hidrostatskim tlakom, dok u smoothiejima koji su bili toplinski obrađeni pasterizacijom nisu bile prisutne. Kako bi se zadovoljili mikrobiološki kriteriji i postigla odgovarajuća kvaliteta smoothieja uzorka 300/ 3'_1 mL kroz 14 dana, potrebni su tlakovi od 300 MPa u vremenskom periodu od minimalno 3 minute radi postizanja inaktivacije aerobnih mezofilnih bakterija, enterobakterija i kvasaca. Dok je kod uzoraka s manjom količinom sezamovog ulja također minimalni tlak od 300 MPa, a potrebno vrijeme obrade je minimalno 9 minuta kako bi se postigli zadovoljavajući uvjeti od 14 dana. Dobra učinkovitost visokog hidrostatskog tlaka u smanjenju prirodne mikroflore smoothieja uočena je i kod Fernandez i sur. (2019) gdje su se upotrebljavali tlakovi iznad 600 MPa, a skladištenje se vršilo na sobnoj temperaturi. Varela – Santos i sur. (2012) su dokazali da tretmani visokim hidrostatskim tlakom od 350 MPa u vremenskom periodu od samo 30 sekundi rezultiraju značajnim smanjenjem broja aerobnih mezofilnih bakterija (98,4 %), plijesni i kvasaca (99,2 %), dok je s tlakovi iznad 450 MPa postignuto smanjenje mikroorganizama ispod razine detekcije ($<1,0 \log_{10} \text{CFU mL}^{-1}$). Sličan zaključak postigli su i Ferrari i sur. (2010) da tlakovi iznad 400 MPa osiguravaju potpunu dekontaminaciju voćnog soka. Putnik i sur. (2019) također navode kako hidrostatski tlakovi od 350 i 550 MPa omogućuju mikrobnu redukciju sokova od nara na manje od $1,0 \text{CFU g}^{-1}$.

5 ZAKLJUČCI

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

1. Promjer sonde ima najveći utjecaj na promjenu fizikalnih parametara smoothieja obrađenih ultrazvukom visokog intenziteta (A_{740} , A_{740} 2h, ρ , T), nakon čega slijedi utjecaj volumena dodanog sezamovog ulja (pH).
2. Vrijeme obrade se kod smoothieja tretiranih visokim hidrostatskim tlakom pokazalo kao najmjerodavniji parametar koji dovodi do najizraženijih promjena promatranih fizikalnih veličina (A_{740} , ρ), dok utjecaj povišenog visokog hidrostatskog tlaka rezultira povišenjem viskoznosti i A_{740} 2 h.
3. Volumen dodanog sezamovog ulja proporcionalan je porastu pH vrijednosti kod smoothieja obrađenih visokim hidrostatskim tlakom, dok je obrnuto proporcionalan kod smoothieja obrađenih ultrazvukom visokog intenziteta.
4. Obrada visokim hidrostatskim tlakom ima najbolji utjecaj na parametre boje (L , a^* , b^* i ΔE_{ab}^*) i to kod smoothieja bez dodatka ulja i s 0,5 mL pri tlakovima od 150 i 450 MPa
5. Visoki hidrostatski tlak ima veći utjecaj na inaktivaciju mikroorganizama, nego ultrazvuk visokog intenziteta, a manji od utjecaja toplinske obrade (pasterizacije). Korištenjem tlakova iznad 350 MPa postiže se zadovoljavajuća kvaliteta proizvoda (mikrobiološka održivost) u vremenskom periodu od 14 dana.

6 LITERATURA

Alvarez, R., Araya, H., Navarro – Lisboa, R., Lopez de Dicastillo, C. (2016) Evaluation of polyphenol content and antioxidant capacity of fruits and vegetables using a modified enzymatic extraction. *Food Technol. Biotechnol.* **54(4)**, 462-467.

Andres, V., Villanueva, M. J., Tenorio, M. D. (2016) The effect of high pressure processing on colour, bioactive compounds and antioxidant activity in smoothies during refrigerated storage. *Food Chem.* **192**, 328-335.

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*, (Rajauria, G., Tiwari, B. K., ured.) Academic Press, Massachusetts, str. 393-423.

Barba, F. J., Cortés, C., Esteve, M. J., & Frígola, A. (2011) Study of antioxidant capacity and quality parameters in an orange juice–milk beverage after high-pressure processing treatment. *Food Bioprocess Tech.* **5(6)**, 2222-2232.

Bosiljkov, T., Tripalo, B., Ježek, D., Brnčić, M., Karlović, S. (2010) Princip rada i primjena visokih tlakova u industriji, *Kem. Ind.* **59(11)**, 539-545.

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. *Hrvat. čas. prehrambenu tehnol. biotehnol. nutr.* **13(3-4)**, 128-135.

Brnčić, M., Tripalo, B., Penava, A., Karlović, D., Ježek, D., Vikić Topić, D., Karlović, S., Bosiljkov, T. (2009) Primjena ultrazvuka visokog intenziteta pri obradi hrane. *Hrvat. čas. prehrambenu tehnol. biotehnol. nutr.* **4(1-2)**, 32-37.

Bosch VitaJuice Silver MES4000 (2020) BSH kućanski uređaji d.o.o. < <https://www.bosch-home.com/hr/popis-proizvoda/pomoc-kod-kuhanja/sokovnici/centrifugalni-sokovnici/MES4000>> Pristupljeno 2. kolovoza 2020.

Buniowska, M., Arrigoni, E., Znamirowska, A., Blesa, J., Frígola, A., Esteve, M.J. (2019) Liberation and micellarization of carotenoids from different smoothies after thermal and ultrasound treatments. *Foods* **8**, 492

Bursać Kovačević, D., Brdar, D., Fabečić, P., Barba, F. J., Lorenzo, J. M., Putnik, P. (2020) Strategies to achieve a healthy and balanced diet: fruits and vegetables as a natural source of bioactive compounds. U: *Agri-food industry strategies for healthy diets and sustainability* (Barba, F. J., Putnik, P., Bursać Kovačević, D., ured.), Academic Press, London, str. 51-88.

Chan, V. i Perlas, A. (2011) Basics of Ultrasound Imaging. U: *Atlas of Ultrasound-Guided Procedure sin Interventional Pain Management* (Narouze, S., ured.), Springer, New York, str. 13-19.

Chemat, F., Huma, Z., Kamran Khan, M. (2011) Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrason. Sonochem.* **18**, 813-835.

Costa, M. G. M., Fonteles, T. V., de Jesus, A. L. T., Almeida, F. D. L., de Miranda, M. R. A., Fernandes, F. A. N., Rodrigues, S. (2011) High-intensity ultrasound processing of pineapple juice. *Food Bioprocess Tech.* **6(4)**, 997-1006. doi:10.1007/s11947-011-0746-9

De Castro, L.M.D., Capote, P.F. (2007) Analytical applications of ultrasound. Elsevier Science, Langford Lane, Oxford, Great Britain.

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.

Fellows, P. J. (2009) Pasteurisation. *Food Processing Technology: Principles and Practice*, 3. izd., Woodhead Publishing Limited, Duxford, str. 381-395.

Fellows, P. J. (2017) Pasteurisation. *Food Processing Technology: Principles and Practice*, 4. izd., Woodhead Publishing Limited, Duxford, str. 563-580.

Fernandez, M. V., Denoya, G. I., Jagus, R. J., Vaudagna, S. R., Agüero, M. V. (2019) Microbiological, antioxidant and physicochemical stability of a fruit and vegetable smoothie treated by high pressure processing and stored at room temperature. *LWT – Food Sci. Technol.* **105**, 206-210.

Ferrari, G., Maresca, P., Ciccarone, R. (2010) The application of high hydrostatic pressure for the stabilization of functional foods in Pomegranate juice. *J. Food Eng.* **100**, 245-253.

Fungilab (2020) Fungilab, Leading viscosity technology <<https://fungilab.com/product/rotational-viscometers/master-series/smart/>> Pristupljeno 2. kolovoza 2020.

Gallo, M., Ferrara, L., Naviglio, D. (2018) Application of Ultrasound in Food Science and Technology: A Perspective. *Foods*, **7(10)**, 164.

Geogebra (2020) <<https://www.geogebra.org/m/eFvxujfV>> Pristupljeno 30. Srpnja 2020.

Hogan, E., Kelly, A. L., Sun, D.-W. (2014) High pressure processing of foods. U: *Emerging Technologies for Food Processing*, (Sun, D.-W. ured.) Elsevier Academic, London, str. 3-24.

Huang, H.-W., Bi, X., Zhang, X., Liao, X., Hu, X., & Wu, J. (2013) Comparative study of enzymes, phenolics, carotenoids and color of apricot nectars treated by high hydrostatic pressure and high temperature short time. *Innov. Food Sci. Emerg.* **18**, 74-82.

Huang, H.-W., Hsu, C.-P., Wang, C.-Y. (2019) Healthy expectations of high hydrostatic pressure treatment in food processing industry. *J. Food Drug Analy.* doi:10.1016/j.jfda.2019.10.002

Huang, H.-W., Wu, S.-J., Lu, J.-K., Shyu, Y.-T., Wang, C.-Y. (2017) Current status and future trends of high-pressure processing in food industry. *Food Control* **72**, 1-8.

Hurtado, A., Picouet, P., Jofré, A., Guàrdia, M. D., Ros, J. M., Bañón, S. (2015). Application of high pressure processing for obtaining “fresh-like” fruit smoothies. *Food Bioprocess Tech.* **8(12)**, 2470-2482. doi:10.1007/s11947-015-1598-5

Hielscher UP100H (2020) Hielscher Ultrasound Technology <https://www.hielscher.com/100h_p.htm> Pristupljeno 2. kolovoza 2020.

Ilić, A. (2019) Hidracija. *Hranologija*, HACPN, **4**, 39-40.

Ježek, D., Karlović, S., Dujmić, F., Bosiljkov, T., Brnčić, M. (2019) Nove netoplinske tehnologije u prehrambenoj industriji. U: *Živilstvo in prehrana med tradicijo in inovacijo*. 30. Bitenčevi živilski dnevi (Smole Možina, S., Paš, M., ured.) Biotehniška fakulteta, Ljubljana, str. 1-10.

Keenan, D. F., Brunton, N. P., Gormley, T. R., Butler, F., Tiwari, B. K., Patras, A. (2010) Effect of thermal and high hydrostatic pressure on antioxidant activity and color of fruit smoothies. *Innov. Food Sci. Emerg.* **11**, 551-556.

Kentish, S. i Feng, H. (2014) Applications of power ultrasound in food processing. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **5**, 263-284.

- Khandpur, P. i Gogate, P. R. (2016) Evaluation of ultrasound based sterilization approaches in terms of shelf life and quality parameters of fruit and vegetable juices. *Ultrason. Sonochem.* **29**, 337-353. doi:10.1016/j.ultsonch.2015.10.008
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., Lee, D. U. (2004) Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends Food Sci. Techn.* **15(5)**, 261-266.
- Komes, D. i Šeremet, D. (2019) Sekundarne biljne sirovine kao izvor funkcionalnih sastojaka u sastavu inkapsuliranih bioaktivnih formulacija. U: Neke mogućnosti iskorištenja nusproizvoda prehrambene industrije (Šubarić, D., Babić, J., ured.) Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno – tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 15-36.
- Konica Minolta (2020) Konica Minolta Sensing Europe B. V. <<https://sensing.konicaminolta.us/us/products/cm-3500d-spectrophotometer/#>> Pristupljeno 2. kolovoza 2020.
- Levaj, B. (2018) Minimalno procesiranje voća i povrća. Nastavni materijal, Zagreb: Prehrambeno – biotehnološki fakultet.
- Lovrić, T. (2000) Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva, Hinus, Zagreb
- Ljubić, A., Jurić, A., Lisak Jakopović, K. (2015) Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na fermentaciju mlijeka bifidobakterijama. *Mljekarstvo* **65(2)**, 71-80.
- Mahadevan, S., Karwe, M. V. (2016) Effect of high-pressure processing on bioactive compound. U: High Pressure Processing of Food- Principles, Technology and Application, (Balasubramaniam, V. M., Barbosa-Cánovas, G. V., Leliveld, H. L. M., ured.), Springer, New York, str. 479-509.
- Mason, T. J. (1998) Power ultrasound in food processing – The way forward. U: Ultrasound in food processing (Povey, M. J. W., Mason, T. J., ured.), Blackie Academic & Professional, London, str. 103-126.
- Mason, T.J., Lorimer, J.P. (2002) Applied Sonochemistry: The Uses of Power Ultrasound in Chemistry and Processing. Wiley – VCH Verlag GmbH, Weinheim.
- Moslavac, T., Jozinović, A., Jašić, M. (2019) Mogućnosti iskorištenja pogače, nusproizvoda industrije biljnih ulja. U: Neke mogućnosti iskorištenja nusproizvoda prehrambene industrije

(Šubarić, D., Babić, J., ured.) Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno – tehnološki fakultet Osijek, Osijek, str. 63-82.

Moslavac, T., Vuković, D., Čorbo, S., Pozderović, A., Pichler, A., Popović, K. (2013) Utjecaj antioksidansa na oksidacijsku stabilnost smjese sezamovog ulja i drugih biljnih ulja. U: XIV. Ružičkini dani, Danas znanost – sutra industrija (Jukić, A. ured.) Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehnologa, Zagreb i Osijek, str. 245-255.

MT (2020) Mettler Toledo, MT.

https://www.mt.com/de/de/home/phased_out_products/PhaseOut_Ana/DE40.html

Pristupljeno 2. kolovoza 2020.

Ojha, K. S., Mason, T. J., O'Donnell, C. P., Kerry, J. P., Tiwari, B. K. (2017) Ultrasound technology for food fermentation applications. *Ultrason. Sonochem.* **34**, 410-417.

Pasterizator šaržni PS 100 (2020) Prehrambeno – biotehnološki fakultet, Zagreb
<http://www.pbf.unizg.hr/content/download/31342/125627/version/1/file/Pasterizator+%C5%BEEni+PS+100.pdf> > Pristupljeno 2. kolovoza 2020.

pH metar (2020) Prehrambeno – biotehnološki fakultet, Zagreb
http://www.pbf.unizg.hr/znanstveni_i_strucni_rad/katalog_opreme/zavod_za_procesno_inzenjstvo/laboratorij_za_tehnoske_operacije > Pristupljeno 2. kolovoza 2020.

Patterson, M. F. (2005) Microbiology of pressure-treated foods. *J. Appl. Microbiol.* **98(6)**, 1400-1409.

Patterson, M. F., Linton, M., Doona, C. J. (2007) Introduction to High Pressure Processing of Foods. U: High Pressure Processing of Foods (Doona, C. J., Feeherry, F. E., ured.) Blackwell Publishing and the Institute of Food Technologists, USA, str. 1-14.

Picouet, P. A., Hurtado, A., Jofre, A., Banon, S., Ros, J.-M., Guardia, M. D. (2016) Effects of Thermal and High-pressure Treatments on the Microbiological, Nutritional and Sensory Quality of a Multi-fruit Smoothie. *Food Bioprocess Technol.* **9(7)**

Pingret, D., Fabiano-Tixier, A.-S., Chemat, F. (2013) Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control*, **3(12)**, 593-606.

Piyasena, P., Mohareb, E., McKellar, R. (2013) Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *Int. J. Food Microbiol.* **87(3)**, 207-216.

Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu (2008) *Narodne novine* **46/07**, Zagreb

Putnik, P., Bursać Kovačević, D., Herceg, K., Levaj, B. (2017) Influence of cultivar, anti-browning solutions, packaging gasses, and advanced technology on browning in fresh-cut apples during storage. *Journal of Food Process Engineering*, **40**, e12400. DOI: 10.1111/jfpe.12400

Putnik, P., Kresoja, Ž., Bosiljkov, T., Režek Jambrak, A., Barba, F. J., Lorenzo, J. M., Roohinejad, S., Granato, D., Žuntar, I., Bursać Kovačević, D. (2019) Comparing the effects of thermal and non-thermal technologies on pomegranate juice quality: A review. *Food Chem.* **279**, 150-161.

Soria, A. C. i Villamiel, M. (2010) Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends Food Sci. Tech.* **21**, 323-331.

Statistica 12, v. 12.0, Informer Technologies, Inc, Valley, Nebraska, USA; 2013. dostupno na: <https://statistica.software.informer.com/download/>.

Tefal Infiny Press Revolution (2020) Tefal <<https://www.tefal.com.hr/PRIPREMA-HRANE-I-PI%C4%86A/Sokovnici-i-cjedila-agruma/Infiny-Press-Revolution/p/1500866743>>

Pristupljeno 2. kolovoza 2020.

Ünver, A. (2016) Applications of ultrasound in food processing. *Green Chem. Tech. Lett.* **2(3)**, 121-126.

Varela – Santos, E., Ochoa – Martiney, A., Tabilo – Munizaga, G., Reyes, J. E., Perez – Won, M., Briones – Labarca, V., Morales – Castro, J. (2012) Effect of high hydrostatic pressure (HPP) processing on physiochemical properties, bioactive compounds and shelf-life of pomegranate juice. *Innov. Food Sci. Emerg.* **13**, 13-22.

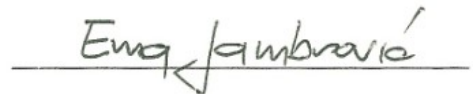
Zenker, M., Heinz, V., Knorr, D. (2003) Application of ultrasound-assisted thermal processing for preservative and quality retention of liquid foods. *J. Food Protect.* **66**, 1642-1649.

Walkling – Ribeiro, M., Noci, F., Cronin, D. A., Lyng, J. G., Morgan, D. J. (2010) Shelf life and sensory attributes of a fruit smoothie-type beverage processed with moderate heat and pulsed electric fields. *LWT – Food Sci. Technol.* **43**, 1067-1073.

Yamamoto, K. (2017) Food processing by high hydrostatic pressure. *Biosci. Biotech. Bioch.* **81(4)**, 672-679.

IZJAVA O IZVORNOSTI

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

A handwritten signature in black ink, reading "Ema Jambrović", is written over a horizontal line. The signature is cursive and includes a small mark at the end of the last name.

Ema Jambrović