

Utjecaj netoplinskih tehnologija na raspodjelu veličine čestica i intervalnu stabilnost višekomponentnih sustava smoothieja

Knechtl, Sven

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:159:286982>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-02**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO – BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2021.

Sven Knechtl

1221/ PI

**UTJECAJ NETOPLINSKIH
TEHNOLOGIJA NA RASPODJELU
VELIČINE ČESTICA I
INTERVALNU STABILNOST
VIŠEKOMPONENTNIH SUSTAVA
SMOOTHIEJA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnološke operacije na Zavodu 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).

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 RASPODJELU VELIČINE ČESTICA I INTERVALNU STABILNOST VIŠEKOMPONENTNIH SUSTAVA SMOOTHIEJA

Sven Knechtel, 1221/PI

Sažetak: Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj visokog hidrostatskog tlaka (VHT) i ultrazvuka visokog intenziteta (UVI) na uzorke smoothieja sa dodanim sezamovim uljem od 0,5 i 1 mL kako bi se dobio proizvod veće stabilnosti. Stabilnost je praćena preko izmjerenih vrijednosti apsorbancije i izračunatim vrijednostima indeksa stabilnosti. Stabilnost sustava izražena je i preko intervala raspodjele čestica. Istraživanje je provedeno pri sljedećim parametrima VHT: ($p = 150, 300$ i 450 MPa); vrijeme obrade ($t = 3, 9$ i 15 min); UVI: amplituda ($A = 60$ i 100 %), vrijeme obrade ($t = 2, 6$ i 10 min), promjer sonde ($d = 7$ i 10 mm). Dobiveni rezultati uspoređeni su sa standardnim postupkom toplinske obrade pri 85 °C u trajanju od 5 minuta. VHT obradom pri 150 MPa postiže se najveća stabilnost od 660 h sa intervalom raspodjele od $0,02 - 10$ μm . UVI obradom pri 60 %, 10 minuta, sondom promjera 10 mm postiže se stabilnost od 290 h sa intervalom raspodjele čestica od $100 - 2000$ μm . Kod obje netoplinske tehnologije dodatak sezamovog ulja doveo je do značajnog povećanja stabilnosti višekomponentnog sustava u odnosu na konvencionalnu toplinsku obradu.

Ključne riječi: *ultrazvuk visokog intenziteta, visoki hidrostatski tlak, pasterizacija, smoothie, stabilnost, raspodjela veličina čestica*

Rad sadrži: 49 stranica, 26 slika, 6 tablica, 75 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. Filip Dujmić
2. Izv. prof. dr. sc. Tomislav Bosiljkov
3. Doc. dr. sc. Sven Karlović
4. Doc. dr. sc. Davor Valinger (zamjena)

Datum obrane: 6. srpnja 2021.

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 PARTICLE SIZE DISTRIBUTION AND INTERVAL STABILITY OF MULTICOMPONENT SMOOTHIE SYSTEMS

Sven Knechtl 1221/PI

Abstract: This research aimed to explore the influence of high hydrostatic pressure (HHP) and the high-intensity ultrasound (HIU) on the samples of smoothies with added sesame oil of 0,5 and 1 mL to get the product of higher stability. Stability was tracked by the measured absorbance levels and the calculated stability index values. The stability of the system is expressed by using the particle-size distribution intervals. The research was conducted by the following parameters: HHP: ($p = 150, 300$ and 450 MPa), time of processing ($t = 3, 9$ and 15 min); HIU: amplitude ($A = 60$ and 100 %), time of processing ($t = 2, 6$ and 10 min), probe diameter ($d = 7$ and 10 mm). The given results were compared to the standard process of heat treatment (85 °C in 5 minutes). The highest stability of 660 h is a result of HHP processing of 150 MPa with the distribution interval of $0,02 - 10$ μm . The result of HIFU processing of 60 %, 10 minutes and the probe diameter of 10 mm is the stability of 290 h with the distribution interval of $100 - 2000$ μm . In both of the non-thermal technologies the addition of sesame oil resulted in a significant increase in the stability of the multicomponent system as opposed to the conventional heat treatment.

Keywords: *high intensity ultrasound, high hydrostatic pressure, pasteurization, smoothie, particle size distribution*

Thesis contains: 49 pages, 26 figures, 6 tables, 75 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. *Filip Dujmić*, Assistant professor
2. Phd. *Tomislav Bosiljkov*, Associate professor
3. Phd. *Sven Karlović*, Assistant professor
4. Phd. *Davor Valinger*, Assistant professor (substitute)

Thesis defended: 6th July 2021

SADRŽAJ

1	UVOD	1
2	TEORIJSKI DIO	2
2.1.	SMOOTHIE	2
2.2.	ULTRAZVUK	3
2.2.1.	Kavitacija	5
2.2.2.	Primjena ultrazvuka visokog intenziteta u 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 smoothie	12
2.3.3.	Visoki hidrostatski tlak u prehrambenoj industriji	13
2.4.	TOPLINSKE METODE	14
2.5.	EMULZIJE	14
2.5.1.	Homogenizacija	16
2.5.2.	Emulgatori	16
2.5.3.	Fizikalna stabilnost emulzija	17
2.5.4.	Kinetička i termodinamička stabilnost emulzija	18
2.6.	RASPODJELA VELIČINE ČESTICA	20
3	EKSPERIMENTALNI DIO	22
3.1	MATERIJALI	22
3.2	METODE RADA	22
3.2.1	Priprema smoothieja	22
3.2.2	Obrada ultrazvukom	22
3.2.3	Obrada visokim hidrostatskim tlakom	23
3.2.4	Pasterizacija	24
3.2.5	Mjerenje apsorbancije	24
3.2.6	Određivanje indeksa stabilnosti smoothieja (ISS)	25
3.2.7	Određivanje raspodjele veličine čestica	25
3.2.8.	Mikroskopiranje	25
3.2.9.	Statistička obrada	25
4	REZULTATI I RASPRAVA	26
5	ZAKLJUČCI	41
5	LITERATURA	42

1 UVOD

Voće i povrće su bitna komponenta zdrave prehrane, a njihov dovoljno veliki dnevni unos pomaže u prevenciji mnogih bolesti. Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) preporučuje dnevni unos od minimalno 400 g voća i povrća dnevno (isključujući krumpir i druge podzemne biljne organe bogate škrobom) za prevenciju kroničnih bolesti poput kardiovaskularnih bolesti, raka, dijabetesa i pretilosti, ali i prevenciju premalog unosa određenih mikronutrijenata. U Europi unos voća i povrća varira među zemljama, prema Europskoj agenciji za sigurnost hrane (EFSA) prosječni unos voća i povrća iznosi 386 grama dnevno.

Povećani broj potrošača zabrinutih za svoje zdravlje zahtijeva bolju kvalitetu hrane, povećanu sigurnost hrane, veću nutritivnu vrijednost, svježinu i bolje okuse i arome. Potreba za pranjem, guljenjem i rezanjem su razlog sve veće potražnje za gotovim, minimalno obrađenim proizvodima od voća i/ili povrća. Prehrambena industrija primorana je razvijati netoplinske tehnologije koje omogućavaju zadržavanje izvornih okusa i kvalitete hrane.

Ultrazvuk visokog intenziteta i visoki hidrostatski tlak su tehnologije koje se trenutno najviše istražuju kao alternativa tradicionalnim toplinskim metodama. Njima se osiguravaju minimalne promjene nutritivnih i senzorskih svojstava prehrambenih proizvoda. Stoga su u ovom radu određena fizikalna svojstva i raspodjela veličina čestica smoothieja od cikle, jabuke i mrkve uz dodatak sezamovog ulja, obrađenog visokim hidrostatskim tlakom, ultrazvukom visokog intenziteta i konvencionalnim postupkom pasterizacije.

Cilj ovog diplomskog rada bio je usporediti utjecaj netoplinskih metoda sa konvencionalnom metodom toplinske obrade (pasterizacija). Ispitan je utjecaj različitog volumena dodanog ulja na povećanje stabilnosti unutar faza (preko vrijednosti apsorbancije) unutar višekomponentnog sustava smoothieja, definiranih intervalom raspodjele čestica.

2 TEORIJSKI DIO

2.1. SMOOTHIE

Odgovarajući unos voća i povrća važan je za ljudsku prehranu zbog toga što su to bogati izvori esencijalnih hranjivih sastojaka i bioaktivnih spojeva koji mogu smanjiti rizik od nastanka kroničnih bolesti. Sukladno tome prehrambena industrija razvija nove oblike proizvoda poput smoothieja kao alternativa za konzumaciju svježeg voća i povrća (Boeing i sur., 2012).

Smoothie je bezalkoholni napitak pripremljen od svježeg ili smrznutog voća i/ili povrća koje se međusobno miješa. Smoothieji mogu sadržavati i druge komponente poput jogurta, mlijeka, sladoleda, ulja, vode ili čaja. (Castillejo i sur., 2016).

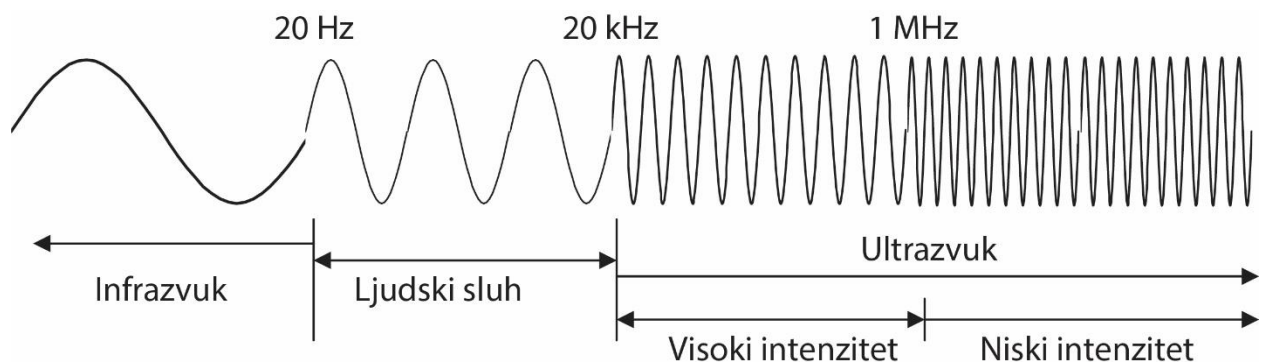
Posljednjih godina potrošači postaju sve svjesniji utjecaja pravilne prehrane na njihovo zdravlje. Zbog toga postoji sve veća potražnja za zdravim, hranjivim proizvodima bez aditiva. Uz to, trenutni način života prisiljava potrošače na konzumiranje gotovih proizvoda za jelo (Fernandez i sur., 2018). U tom smislu potrošnja smoothieja izvrstan je način za povećanje unosa hranjivih i bioaktivnih sastojaka prisutnih u voću i povrću. Senzorska svojstva smoothieja, posebno izgled i okus, te činjenica da se radi o gotovom i nadasve zdravom proizvodu spremnom za konzumaciju su faktori koji sve više doprinose njegovoj popularnosti (Andrés i sur. 2016). Miješanje različitog voća i povrća je dobar način kako iskoristiti visoko nutritivne sastojke, npr. cikle i pretvoriti ga u proizvod s dodanom nutritivnom vrijednošću (Fernandez i sur., 2018).

Neobrađeni proizvodi dobiveni od voća i povrća imaju kratak rok trajanja koji se obično pripisuje mikrobnom i enzimskom kvarenju. Iako su to obično vrlo kiseli proizvodi, s pH vrijednošću nižom od 4 i nepovoljnim uvjetima za rast većine bakterija, neki mikroorganizmi poput kvasaca, bakterija mliječne kiseline (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* i *Streptococcus*), *Alicyclobacillus acideoterrestris*, *Listeria monocytogenes* određene vrste Salmonella i nekoliko sojeva *E. coli*, mogu preživjeti i rasti u takvim uvjetima (Gram i sur., 2002; Jayachandran i sur., 2015). Prirodna prisutnost enzima poput peroksidaze, polifenol oksidaze i pektinmetilesteraze, između ostalog uzrokuje oksidaciju fenolnih komponenti, i induciranje oksidativnog posmeđivanja što općenito uzrokuje smanjenu nutritivnu i senzorsku vrijednost proizvoda (Chakraborty i sur. 2014).

Tradicionalno se tekuća hrana konzervira termičkih tretmanima poput pasterizacije ili sterilizacije. Ti postupci osiguravaju sigurnost i sprječavaju kvarenje, također mogu rezultirati gubitkom toplinski labilnih hranjivih sastojaka kao što su vitamini ili bioaktivne fitokemikalije (Rickman i sur., 2007). Glavni izazov prehrambene industrije je zadržavanje nutritivne vrijednosti i senzorske kvalitete ovakvih proizvoda, stoga se istraživanja u postupcima netoplinske obrade hrane brzo povećavaju (Duong i Balaban, 2014)

2.2. ULTRAZVUK

Zvučni valovi su definirani svojom frekvencijom (Slika 1). Infrazvuk predstavlja sve zvučne valove s frekvencijom nižom od frekvencije zvuka koju može detektirati ljudsko uho, takvi zvučni valovi se najčešće koriste kod sonarnih uređaja u podmornicama, dok ih u prirodi nalazimo kod glasanja kitova, oluja, turbulencija vjetra. Raspon frekvencija koje čuje ljudsko uho se nalazi između 20 Hz i 20 kHz. Ultrazvukom su definirani zvučni valovi čija frekvencija iznosi iznad onih koje može čuti ljudsko uho, tj. iznad 20 kHz, primjer korištenja takvih frekvencija u prirodi su dupini koji ih koriste za navigiranje i međusobnu komunikaciju (Feng i sur., 2011).



Slika 1. Spektar zvučnih valova (Kentish i Ashokkumar, 2010)

Prema frekvenciji, primjena ultrazvuka u obradi hrane, analizi i kontroli kvalitete se može podijeliti na dvije kategorije: ultrazvuk niskog intenziteta i ultrazvuk visokog intenziteta. Ultrazvuk niskog intenziteta karakteriziraju frekvencije više od 100 kHz pri intenzitetima manjima od 1 Wcm^{-2} , koji omogućavaju neinvazivnu analizu i praćenje raznih prehrambenih materijala tijekom obrade i skladištenja kako bi se osigurala visoka kvaliteta i sigurnost prehrambenih proizvoda. Ultrazvuk niskog intenziteta koristi se kao nedestruktivna potpora pri programima genetskog poboljšanja genetskog materijala stoke, te pri evaluaciji sastava sirovih i fermentiranih mesnih proizvoda i proizvoda dobivenih od ribe ili peradi. Koristi se i za kontrolu kvalitete svježeg voća i povrća prije ili nakon berbe, tijekom zrenja sira, komercijalnih ulja za kuhanje, kruha i proizvoda dobivenih od žitarica, proizvoda bogatih mastima koji se baziraju na emulgiranju ulja, prehrambenim gelovima, aeriranim i smrznutim proizvodima (Gallego-Juárez i sur., 2010).

Ultrazvuk visokog intenziteta je jedna od novih netoplinskih tehnologija koja omogućava minimalnu obradu namirnice s visokom razinom sigurnosti koja garantira kvalitetu gotovog proizvoda (Knorr i sur., 2011). Ultrazvuk visokog intenziteta koristi intenzitete koji iznose više od 1 Wcm^{-2} , frekvencije između 20 i 500 kHz. Ultrazvuk visokog intenziteta uzrokuje mehaničke, kemijske i/ili biokemijske promjene, koji se koriste za modifikaciju fizikalno – kemijskih svojstava i poboljšanje kvaliteta različitih proizvoda tijekom obrade (Mason i sur., 2011). Ova tehnologija se uspješno koristi kao alternativa konvencionalnim tehnologijama, mehanički utjecaj ultrazvučnih valova ima primjenu kod otplinjavanja, emulgiranja, unaprjeđenja kristalizacije i polimorfne modifikacije, koristi se za kontrolu mikrostrukture i modificiranje karakteristika teksture proizvoda dobivenih od ulja i masti (sonokristalizacija), modificiranje funkcionalnih svojstava pojedinih proteina, inaktivaciju ili ubrzanje enzimatske aktivnosti kako bi se produljio rok trajanja proizvoda, povećala mikrobiološka stabilnost, unaprijedio postupak zamrzavanja i odmrzavanja, sušenja i ekstrakcije pojedinih komponenata (Gallego-Juárez i sur., 2010).

Svakodnevni napredak u elektronici pomaže u dizajniranju ultrazvučnih sondi i instrumenata visoke razlučivosti i praktičnosti, čime se uvodi velika raznolikost i primjena ultrazvuka za poboljšanje kvalitete prehrambenih proizvoda u prehrambenoj industriji. Ipak, ultrazvuk ne može jednostavno biti generaliziran da zadovolji zahtjeve različitih primjena, stoga ultrazvučna oprema mora biti specifično dizajnirana. Pri odabiru dizajna, geometrije ili karakteristika odgovarajuće ultrazvučne sonde potrebno je voditi brigu o fizikalno – kemijskim i

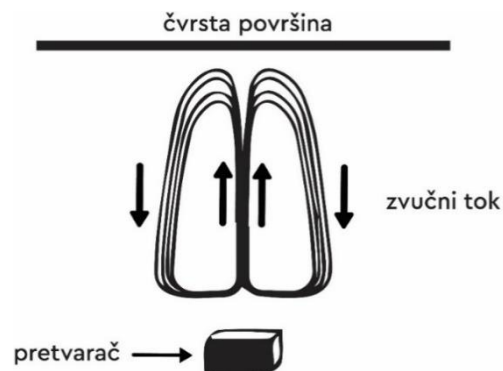
funkcionalnim svojstvima određene hrane ili načinu obrade kako bi se postigla željena promjena. Prema Feng i sur. (2011), jedna od glavnih prednosti korištenja ultrazvuka visokog intenziteta je to što je taj postupak izrazito ekološki prihvatljiv i omogućava veliku reproducibilnost, visoko je učinkovit uz nisku potrošnju energije, zahtijeva minimalnu primjenu dodatnih resursa te je vrijeme obrade značajno kraće u odnosu na konvencionalne metode.

2.2.1. Kavitacija

Temeljni mehanizam ultrazvuka na tekućinu je taj da proizvodi zvučni tlak (P_a) uz postojeći hidrostatski tlak koji već djeluje u tekućem mediju. Zvučni tlak je sinusni val koji predstavlja promjenu atmosferskog tlaka uzrokovanog zvukom, a ovisan je o vremenu (t), frekvenciji (f) i zvučnom tlaku maksimalne amplitude ($P_{a\max}$). $P_{a\max}$ je direktno proporcionalan s izlaznom snagom uređaja (Patist i Bates, 2008).

$$P_a = P_{a\max} \sin(2\pi ft) \quad (1)$$

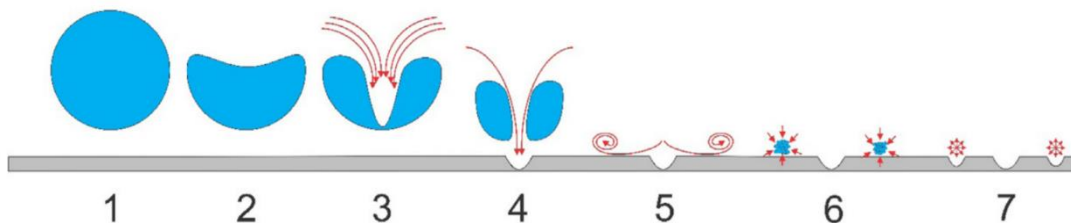
Kod malih intenziteta dolazi samo do zvučnoga toka, što znači da dolazi samo do kretanja i miješanja unutar tekućeg medija bez stvaranja mjehurića (Slika 2) (Alzamora i sur., 2011). Visoki intenziteti (niske frekvencije) induciraju akustičnu kavitaciju (Mason, 1998).



Slika 2. Shematski prikaz zvučnog toka (Muthukumaran, 2006)

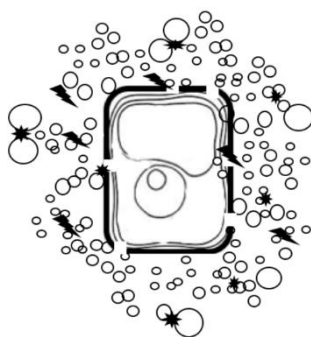
Kavitacije se mogu klasificirati u akustične, hidrodinamičke, optičke i čestične. Samo akustične i hidrodinamičke kavitacije su dovoljno intenzivne za induciranje kemijskih i fizikalnih promjena u prehrambenim sustavima (promjene na ugljikohidratima, proteinima, lipidima i dr.). Različiti učinci zbog koji se kavitacija može korisno koristiti u prehrambenoj tehnologiji su smanjenje ukupnog vremena obrade, povećanje prinosa i korištenje nižih temperatura u usporedbi s konvencionalnim tehnologijama (McClements, 1995).

Kemijske promjene do kojih dolazi tijekom tretmana ultrazvukom nisu rezultat direktne interakcije molekula s ultrazvukom, već su rezultat fenomena akustične kavitacije, tj. nastanka, rasta i na kraju implozije tisuće mikro i nano veličina mjehurića u tekućem mediju, prilikom čega dolazi do oslobađanja velike količine lokalizirane energije. Kavitacija je fenomen uzrokovan kontaktom ultrazvučnih valova i medija, u većini slučajeva vode. Porastom intenziteta fluid više nije u mogućnosti apsorbirati svu energiju putem zvučnog toka, stoga porastom zvučnoga tlaka dolazi do formiranja mjehurića. Mjehurići se stvaraju iz postojećih nukleusa plinova u tekućini. Tijekom ciklusa širenja zvučnog vala otopljeni plinovi i para difundiraju u postojeće nukleuse i na taj način počinje proces nukleacije, tj. rasta mjehurića. Tijekom ciklusa kompresije vala dolazi do kompresije mjehurića i izbacivanja sadržaja iz mjehurića natrag u fluid, međutim količina izbačenih plinova je manja od količine apsorbiranih plinova tijekom ciklusa širenja vala. Stoga porastom broja ultrazvučnih ciklusa dolazi do rasta mjehurića. Rastom mjehurića dolazi do podudaranja rezonantne frekvencije mjehurića i primijenjene frekvencije zvučnih valova, prilikom pojave ovakvog stanja dolazi do faznog sprezanja koje je uzrok implozije mjehurića (Slika 3) (Mason, 1998).



Slika 3. Shematski prikaz implozije mjehurića (Zupanc i sur., 2019)

Proces kavitacije se odvija u kratkim vremenskim intervalima od 10^{-8} do 10^{-6} sekundi, a implozije mjehurića generiraju kratkotrajne visoke temperature veće od $5000\text{ }^{\circ}\text{C}$, koje mogu izazvati fizičke, kemijske i metaboličke promjene te mikro mlazove koji dostižu brzinu od nekoliko stotina metara u sekundi (Alzamora i sur., 2010). Prolazne i ponavljajuće pojave kavitacije uzrokuju stvaranje visokih tlakova ($70 - 100\text{ MPa}$) koji su uzrok turbulencijama (Feng i sur., 2011), rezultirajući promjenom viskoznosti, razgradnjom polimernih lanaca staničnih stijenki i ujedno narušavanjem stanične strukture (Slika 4).



Slika 4. Shematski prikaz stanice tijekom fenomena kavitacije koji prikazuje nastanak pora i puknuće stanične structure (Serrano Sandoval, 2017)

Zbog visokih temperatura ($>5000\text{ }^{\circ}\text{C}$) dolazi do razbijanja strukture molekula vode i tvorbe slobodnih radikala (H^{\cdot} , OH^{\cdot}), a rezultat toga su nespecifične reakcije (Jacobo-Velazquez i sur., 2017). Slobodni ioni H^+ i OH^- mogu se povezati s aminokiselinskim ostacima enzima i utjecati na njihovu stabilnost, mjesto vezanja supstrata i katalitičke funkcije (Cruz i sur., 2006). U blizini organskih molekula u matriksu može doći do pirolize koja može uzrokovati nepovratne kemijske i fizikalne promjene koje u namirnicama stvaraju nepoželjne arome, a postoji i mogućnost agregacije i denaturacije proteina (O'Sullivan i sur., 2016). Zbog toga je nužno naći optimalne uvjete za određenu hranu kako bi se izbjegle nepovratne i neželjene promjene, a ujedno osigurala i visoka kvaliteta prerađenih proizvoda (Feng i sur., 2011).

2.2.2. Primjena ultrazvuka visokog intenziteta u industriji

Ultrazvuk dokazuje svoje mogućnosti u prehrambenoj industriji (Tablica 1) gdje unaprjeđuje postojeće tehnološke procese (npr. povećani prinos tijekom ekstrakcije i bolja teksturna svojstva). Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta je učinkovitiji kada se koristi u kombinaciji sa konvencionalnim tehnikama pri obradi hrane (Bhargava, 2020).

Tablica 1: Primjena ultrazvuka visokog intenziteta u industriji (Bhargava, 2020)

Kategorija	Proizvod	Prednosti
Mesna industrija	Piletina, junetina, svinjetina	Olakšano omekšavanje mesa, povećani kapacitet za zadržavanje vode; bolja boja; antimikrobni učinak; skraćeno vrijeme potrebno za zrenje mesa
Voće i povrće	Svježe i minimalno obrađeno voće i povrće, sokovi, voćni i povrtni pire, jestiva ulja	Skraćeni tretman pasterizacije i sterilizacije; promjene u boji; inaktivacija enzima; poboljšane karakteristike sušenja; veća čistoća i kvaliteta ulja
Proizvodi od žitarica	Brašno, pekarski proizvodi (kruh, keksi, krekeri, vafli, krafne, palačinke)	Poboljšana čvrstoća i tekstura proizvoda, boja, unaprijeđene senzorske kvalitete pekarskih proizvoda
Mliječni proizvodi	Mlijeko, jogurt, sir, sladoled	Inaktivacija mikroorganizama, homogenizacija, smanjenje veličine promjera masnih globula, poboljšanja organoleptičkih svojstava i nutritivne kvalitete, smanjenje vremena potrebnog za zrenje i fermentaciju
Emulzije	Majoneza, dresing, vrhnje	Povećan indeks stabilnosti i kapacitet emulgiranja

2.3. VISOKI HIDROSTATSKI TLAK

Visoki hidrostatski tlak je netoplinška tehnologija koja se koristi za obradu hrane posljednjih tridesetak godina, ali ima sve veću primjenu u medicinskim istraživanjima i farmaceutskoj industriji. Prva primjena ove tehnologije za inaktivaciju mikroorganizama i produljenje roka trajanja proizvoda izveo je Hitte 1899. godine (Huang i sur., 2014).

Visoki hidrostatski tlak ne ovisi o temperaturi, korištenju kemijskih agensa, reduciranom aktivitetu vode, omogućava visoku razinu sigurnosti sa mikrobiološkog aspekta bez dodavanja konzervansa što omogućava zadržavanje okusa i nutritivnih karakteristika hrane izvornog podrijetla (Daryaei i Balasubramaniam, 2012). U usporedbi s tradicionalnim toplinskim tehnologijama, kod kojih dolazi do velike potrošnje energije, visoki hidrostatski tlak se uglavnom koristi pri sobnoj temperaturi. Do potrošnje energije dolazi samo tijekom postizanja vrijednosti radnog tlaka, u trenutku kada tlak dosegne željenu razinu nije potrebno dodatno ulaganje energije za njegovo održavanje. Namirnica koja se obrađuje nalazi se u prikladnoj ambalaži i ne dolazi u izravni dodir sa stjenkama unutar cilindra u kojemu se provodi obrada i na taj način sprječavajući sekundarnu kontaminaciju postrojenja. Ovime se omogućava recikliranje medija za prenošenje tlaka. Uzimajući u obzir prednosti male potrošnje energije i malog rizika od onečišćenja, tehnologija visokog hidrostatskog tlaka je ekološki prihvatljiva tehnologija obrade (Rastogi, 2007).

Visoki hidrostatski tlak ne zahtijeva aktivno zagrijavanje, iako dolazi do pasivnog zagrijavanja tijekom adijabatske kompresije i pasivnog hlađenja tijekom adijabatske dekompresije. Promjena temperature tijekom kompresije ili dekompresije ovisi o stopi kompresije ili dekompresije, dimenzijama tlačne komore i kompresibilnosti tlačnog medija. Kao tlačni medij se najčešće koristi voda kod koje dolazi do povećanje temperature od 3 °C / 100 MPa. Najčešće se visoki hidrostatski tlak koristi pri tlakovima između 100 do 1000 MPa, te temperaturama koje iznose od -20 °C do 121 °C, ovisno o vrsti sirovine, procesu i željenom rezultatu (sterilizacija / pasterizacija) (Yamamoto, 2017).

2.3.1. Princip djelovanja visokog hidrostatskog tlaka

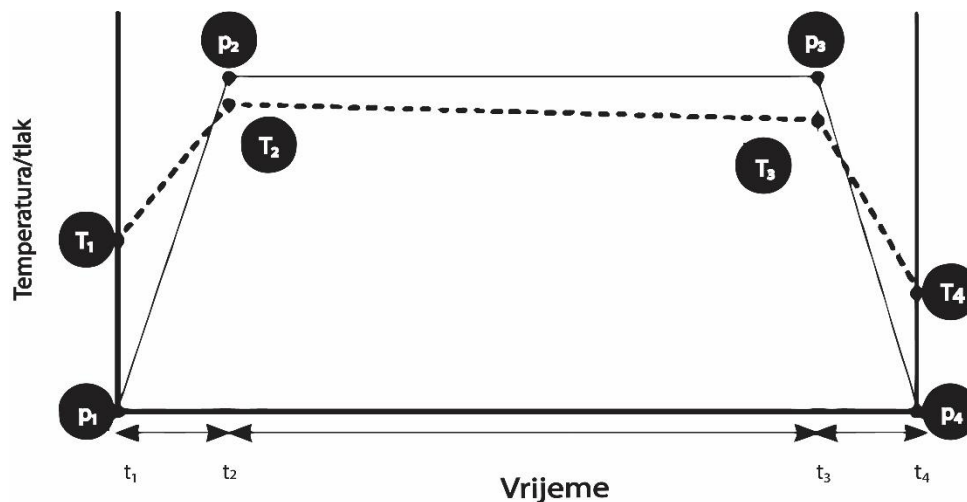
Sustav za obradu visokim hidrostatskim tlakom sastoji se od tlačne komore i sustava za stvaranje tlaka. Za prenošenje tlaka koriste se tekući mediji koji vrlo brzo i ravnomjerno tlači uzorak. Najčešće se koriste voda, otopine glikola, silikonsko ulje, otopine etanola, inertni plinovi (Szcawinski i sur., 1997). Uzorak koji se tretira treba se nalaziti u fleksibilnom pakiranju, iza toga se proizvod stavlja u tlačnu komoru, koja je djelomična napunjena tlačnim medijem, tlačna komora se zatim zatvara i dopunjava tlačnim medijem. Osnova za primjenu visokog hidrostatskog tlaka je komprimiranje medija, najčešće vode, koji okružuje uzorak i djeluje na njega (Farr, 1990.). Kada je postignut željeni tlak, pumpa ili klip se zaustavljaju, ventili ostaju zatvoreni i na taj način se održava tlak bez daljnjeg unošenja energije. Nakon što je uzorak zadržan određeno vrijeme na vrijednosti radnog tlaka, posuda se dekomprimira ispuštanjem medija za prijenos tlaka (Farkas i Hoover, 2000).

Visoki tlakovi mogu se postići izravnom i neizravnom kompresijom te zagrijavanjem tlačne tekućine. Pri izravnoj kompresiji povišeni tlak nastaje pritiskom klipa, kojeg tlači niskotlačna pumpa, na tlačni medij. Ova metoda omogućava vrlo brze kompresije, ali ovakav sustav je limitiran brtvom između klipa i komore koja ovakav sustav limitira samo na korištenje manjih volumena, tj. primjeni u laboratorijima i pilot projektima. Indirektna kompresija koristi pumpu za pumpanje tlačnog medija u tlačnu komoru tako dugo dok se ne postigne željeni tlak (Yordanov i Angelova, 2010).

Djelovanje visokog hidrostatskog tlaka se zasniva na izostatskom tlačenju, tj. činjenici da na sirovinu koja se nalazi u tlačnoj komori uvijek, u svim točkama, djeluje isti tlak, neovisno o njezinom volumenu i obliku (Slika 5). Prema tome tlak se istoga trena jednoliko prenosi kroz uzorak, bio on u direktnom doticaju s tlačnim medijem ili se nalazio u zapečaćenom fleksibilnom pakiranju. Nakon otpuštanja tlaka tretirani uzorak se vraća u prvobitni oblik. Stoga, za razliku od toplinske obrade, vrijeme za obradu uzorka visokim hidrostatskim tlakom neovisno je o obliku i volumenu uzorka. Ukoliko prehrambeni proizvod sadrži dovoljan udio vode u sebi tlak neće oštetiti proizvod na makroskopskoj razini dok god se jednoliki pritisak primjenjuje u svim smjerovima (Crawford i sur., 1996).

Osim izostatskog tlačenja, učinak djelovanja visokog hidrostatskog tlaka na kemiju i mikrobiologiju hrane vođen je „Le Chatelierovim“ načelom koje glasi: „Ako sustavu promijenimo neku intenzivnu veličinu, sustav će nastojati tu promjenu umanjiti“, što znači da će se povećanjem tlaka potaknuti konformacijske promjene i/ili fazni prijelazi koji će biti popraćeni smanjenjem volumena (Elamin i sur., 2015).

Kompresija i dekompresija rezultiraju privremenom promjenom temperature u prehrambenom proizvodu koji se tretira. Rezultat fizičke kompresije je povećanje temperature tijekom procesa povećanja tlaka, no kada tlak postane konstantan, temperatura se snižava tj. ovisi o izmjeni topline između prehrambenog proizvoda, tlačnog medija i tlačne komore. U adijabatskim uvjetima tijekom dekompresije temperatura bi se smanjila na prvobitno stanje, no tijekom prijenosa topline između tlačnog medija, tlačne komore i proizvoda unutar tlačnog medija dolazi do nepovratnog gubitka topline. Rezultat toga je nešto niža temperatura tlačne komore prije kompresije (Yordanov i Angelova, 2010).



Slika 5. Shematski prikaz principa djelovanja izostatskog tlačenja (Yordanov i Angelova, 2010)

Visoki tlak potiče procese poput faznih prijelaza, kemijskih reakcija i promjena na strukturi, ti procesi su popraćeni smanjenjem volumena. Zbog utjecaja visokog hidrostatskog tlaka dolazi do kidanja ionskih veza, što posljedično dovodi do smanjenja volumena zbog elektrostrikcije vode, što implicira da ioni na sebe privlače molekule vode i time smanjuju volumen. Spomenuti mehanizam ukazuje da dolazi do orijentiranja molekula vode prema ionima i samim time do smanjenja volumena (Soper, 2017). Osim kidanja ionskih veza, dolazi do stabiliziranja vodikovih veza zbog visokog tlaka i posljedično do kompresije. Za razliku od toplinskih tehnologija, visoki tlak generalno ne utječe na kovalentne veze. Posljedično visoki hidrostatski tlak može poremetiti velike strukture poput enzima, proteina, lipida i staničnih membrana. (Linton i Patterson, 2000). Visoki hidrostatski tlak predstavlja skoro idealnu metodu za obradu hrane bez da se naruši nutritivna vrijednost i funkcionalnost hrane (Farkas, 2016).

2.3.2. Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka na smoothie

Visoki hidrostatski tlak postaje alternativa tradicionalnoj toplinskoj obradi proizvoda dobivenih od voća i povrća. Visoki tlak inaktivira mikroorganizme, utječe na strukturu proteina i enzima i uzrokuje malo nutritivnih i senzorskih promjena hrane (Patterson i sur., 2012).

Upotreba visokog hidrostatskog tlaka može se smatrati alternativom toplinskoj pasterizaciji za očuvanje smoothieja čiji su sastavni dio voće, poput naranče, jagode, jabuke i banane, čija se senzorska i nutritivna svojstva mijenjaju tijekom procesa pasterizacije. Tlačenjem pri vrijednosti tlaka 350 MPa pri temperaturi 10 °C tijekom 5 minuta zadržava se svježi okus voća i istovremeno se osigurava mikrobna kvaliteta smoothieja, dok primjena intenzivnijih tlakova može predstavljati rizik za smanjenje senzorske i nutritivne kvalitete. Umjereni parametri visokog hidrostatskog tlaka uspješno funkcioniraju u očuvanju vitamina C i ne utječu na fenolne spojeve. Najveći nedostatak visokog hidrostatskog tlaka je neuspješno inaktiviranje pektolitičkih enzima i oksidaza (Hurtado, 2015).

2.3.3. Visoki hidrostatski tlak u prehrambenoj industriji

U prehrambenoj industriji koriste se šaržni uređaji za obradu visokim hidrostatskim tlakom gdje se uglavnom tretiraju pakirani (u većini slučajeva vakuumirani) proizvodi kako bi se izbjegao rizik kontaminacije. Pakiranja moraju biti fleksibilna kako bi izdržala naprezanja uzrokovana visokim tlakovima. Proizvodi se uvode u cilindrične tlačne komore, volumena 50 do 525 L za industrijske uređaje, koje se nalaze u vodoravnom položaju. Nakon toga slijedi zatvaranje tlačne komore i punjenje tlačnog medija uz pomoć tlačne pumpe tako dugo dok se ne postigne željeni tlak i održavanje tog tlaka ovisno o duljini trajanja obrade proizvoda visokim hidrostatskim tlakom. Čitav postupak se izvodi na temperaturi između 4 ° i 20 °C (Pottier i sur., 2017)

Budući da je visoki tlak razvijen kao alternativa toplinskom tretmanu očuvanja hrane, uglavnom su proučavani učinci visokog hidrostatskog tlaka na mikroorganizme. Rezultati pokazuju da su plijesni i kvasci osjetljiviji na pritisak od vegetativnih stanica i da su bakterijske spore otporne na visoke tlakove. Osjetljivost mikroorganizama na visoki tlak ovisi o pH, aktivitetu vode, sadržaju soli i supstratima u hrani (Simonin i sur., 2012). U većini slučajeva inaktivacija mikroorganizama visokim tlakom može se okarakterizirati kemijskim kinetičkim pristupom. Mikroorganizmi su osjetljiviji prilikom djelovanja visokog hidrostatskog tlaka u puferima, niskom pH i visokom aktivitetu vode. Unatoč pozitivnom djelovanju visokog hidrostatskog tlaka, proizvodi se uglavnom prije konzumacije moraju čuvati u hladnjacima (Doona i sur., 2016).

Visoki hidrostatski tlak pokazuje potencijal za korištenje u mnogim prehrambenim industrijama. U tehnologiji vina našao je primjenu kao zamjena za sulfite. Uobičajena praksa je dodavanje sulfita u vino koji se dodaje za smanjenje mikrobne populacije mošta i kasnije za očuvanje vina tijekom duljih razdoblja, no zbog štetnih djelovanja sulfita njihova količina je ograničena, a poželjno je da ga u vinu ima što manje. Utvrđeno je kako tlakovi od 200 MPa inaktiviraju gljivice, kvasce i bakterije mliječne kiseline (Puig i sur., 2008). U mesnoj industriji visoki hidrostatski tlak ima primjenu kod gotovih jela od mesa i mesnih narezaka gdje se isto koristi zbog inaktivacije mikroorganizama (de las Rivas i sur., 2008). U mliječnoj industriji visoki tlakovi do 400 MPa se koriste za obradu mlijeka i proizvoda od mlijeka poput jogurta, sireva, vrhnja. Prednost visokog hidrostatskog tlaka je ta što se osim homogenizacije istovremeno provodi i inaktiviranje mikroorganizama i na takav način se produljuje rok trajanja. Visoki hidrostatski tlak

osim što smanjuje masne globule, denaturira proteine i inaktivira pojedine enzime poput plazmina (O'Reilly i sur., 2001).

2.4. TOPLINSKE METODE

Unatoč porastu i unaprjeđenju tehnologije novih netoplinskih metoda, konvencionalne toplinske metode su još uvijek najzastupljeniji oblik obrade sokova i sličnih proizvoda za osiguranje mikrobiološke sigurnosti i smanjenje enzimske aktivnosti (Rawson i sur., 2011). Nedostaci toplinskih procesa su sporo provođenje i konvekcijski prijenos topline (Baysal i Icier, 2010) te negativan učinak obrade na senzorsku i nutritivnu vrijednost i funkcionalna svojstva prehrambenog proizvoda (Gonzalez i Barrett, 2010). U većini slučajeva ti učinci jako ovise o složenosti proizvoda i njegovim kemijskim i fizikalnim svojstvima (Chen i sur., 2013). Osim uobičajenih konvencionalnih metoda toplinske obrade, postoje i nekonvencionalne metode poput mikrovalnog zagrijavanja, koje karakterizira bolja energetska učinkovitost, niži energetske troškovi i kraće vrijeme tretiranja (Salazar – Gonzales i sur., 2014)

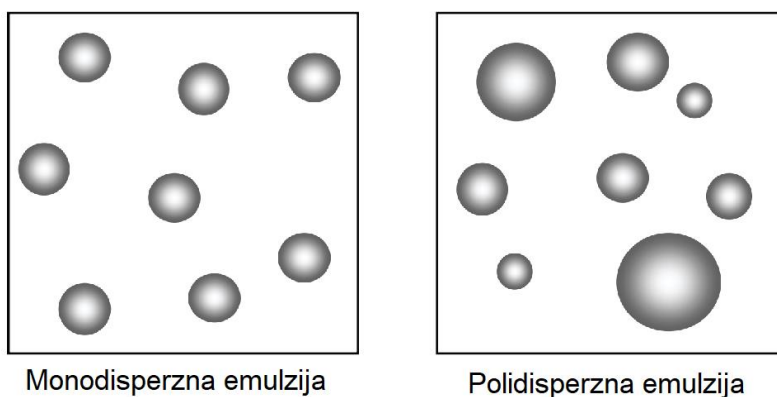
Toplinski procesi mogu se klasificirati prema intenzitetu toplinskog tretmana; razlikujemo HTLT (High temperature - long time / visoka temperatura – dugotrajno zagrijavanje), HTST (High temperature – short time / visoka temperatura – kratkotrajno zagrijavanje), MTLT (Mild temperature – long time / Niska temperatura – dugotrajno zagrijavanje) i MTST (Mild temperature – short time / Niska temperatura – kratkotrajno zagrijavanje) (Miller i Silva, 2012).

2.5. EMULZIJE

Značajan broj obrađenih i neobrađenih prehrambenih proizvoda se djelomično ili u cijelosti nalazi u obliku emulzije ili su bili u emulgiranom stanju tijekom njihove proizvodnje. Primjeri takvih proizvoda su mlijeko, voćni napici, juhe, maslac i margarin. Široka raznolikost fizikalno – kemijskih i senzorskih svojstava koja pokazuju prehrambeni proizvodi bazirani na emulzijama rezultat su različite vrste sastojaka i procesa koji se koriste tijekom proizvodnje (Friberg i sur., 2004).

Emulzija je disperzni sustav koji se sastoji od dviju tekućina koje se međusobno ne mogu miješati, pri čemu je jedna tekućina raspršena kao kapljice u drugoj. Tvar koja se u emulziji nalazi u obliku kapljica naziva se disperzna faza ili diskontinuirana faza, dok se tvar koja omeđuje kapljice naziva dispergirano sredstvo ili kontinuirana faza. Emulzije se sastoje od tri područja koja imaju različita fizikalno – kemijska svojstva: unutrašnjost kapljica / diskontinuirane faze, kontinuirana faza i površinski sloj kapljice. Nepolarne molekule su uglavnom otopljene u uljnoj fazi, polarne molekule u vodenoj fazi, dok se amfifilne molekule nalaze na površini kapljica (Tadros, 2009).

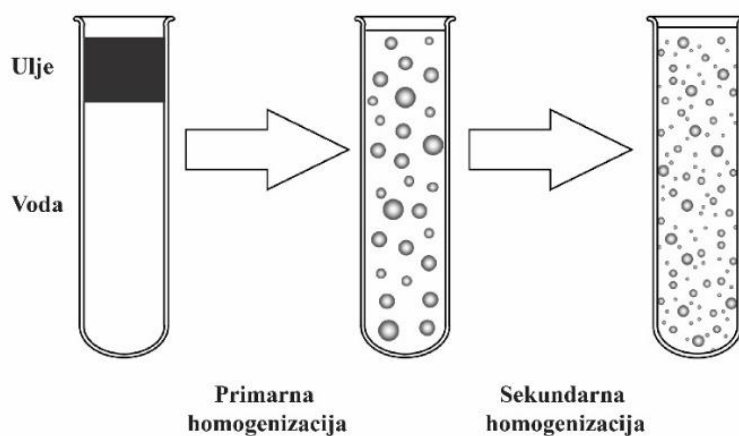
Emulzije se mogu klasificirati prema relativnoj prostornoj raspodjeli uljne i vodene faze. Sustav koji se sastoji od kapi ulja dispergiranih u vodenoj fazi naziva se ulje u vodi (U/V), u prehrambenoj industriji najčešći primjer takvih emulzija su mlijeko, umaci, majoneza i juhe. Sustav koji se sastoji od kapljica vode dispergiranih u uljnoj kontinuiranoj fazi naziva se voda u ulju (V/U), primjer takvih emulzija su maslac i margarin. Osim U/V i V/U tipova emulzija, moguća je priprema višeg reda emulzija, npr. ulje u vodi u ulju (U/V/U) ili voda u ulju u vodi (V/U/V), gdje je disperzna faza već emulzija. Emulzija V/U/V se sastoji od kapljica vode raspršenih unutar većih kapljica ulja, te su takve kapljice raspršene u vodenoj kontinuiranoj fazi (Benichou i sur., 2004). Ovakvi tipovi emulzija se nazivaju makroemulzijama i njihova veličina čestica iznosi između 0,1 i 5 μm . Osim makroemulzija, razlikujemo nanoemulzije s veličinom kapljica između 20 i 100 nm i micelarne ili mikroemulzije gdje veličina kapljica iznosi 5 - 50 μm . Ako su sve kapljice u emulziji iste veličine tada se takva emulzija naziva monodisperznom emulzijom, no ako postoji niz različitih veličina kapljica tada se takva emulzija naziva polidisperznom emulzijom (Slika 6) (Tadros, 2009).



Slika 6. Shematski prikaz monodisperzne i polidisperzne emulzije (McClements, 2015)

2.5.1. Homogenizacija

Homogenizacija je postupak pretvaranja dviju tekućina koje se međusobno ne mogu miješati u emulziju. U prehrambenoj industriji homogenizacija se najčešće provodi pomoću mehaničkih uređaja. Najčešće korišteni mehanički uređaji su brze miješalice, homogenizatori i koloidni mlinovi. Ovisno svojstvima početne sirovine, homogenizacija se može podijeliti u dvije kategorije. Stvaranje emulzije izravno iz dvije odvojene tekućine definira se kao primarna homogenizacija, dok se smanjenje veličina kapljica u već postojećoj emulziji definira kao sekundarna homogenizacija (Slika 7) (McClements, 2015).



Slika 7. Shematski prikaz primarne i sekundarne homogenizacije (McClements, 2015)

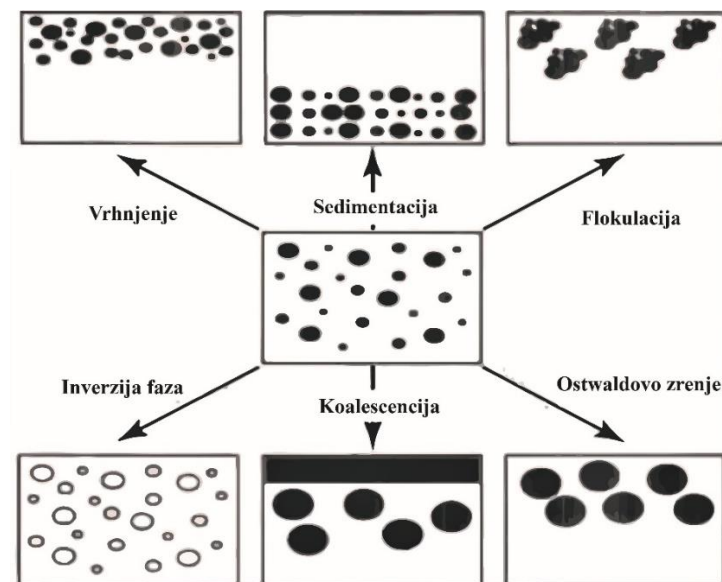
2.5.2. Emulgatori

Emulgatori su površinski aktivne molekule koje se apsorbiraju na površinu kapljica nastalih tijekom homogenizacije, tvoreći membranu koja sprječava agregiranje kapljica. Najučinkovitiji emulgatori su neionske površinski aktivne tvari koje ujedno i stabiliziraju emulziju i osiguravaju je od daljnjih procesa flokulacije i koalescencije. Većina emulgatora je amfifilna, odnosno svaka molekula je građena od polarnog i nepolarnog dijela. Najčešće korišteni emulgatori u prehrambenoj industriji su tenzidi, fosfolipidi, proteini i polisaharidi. Osim emulgatora, koriste se zgušnjivači i tvari za želiranje, koji poboljšavaju stabilnost emulzije usporavanjem kretanja kapljica. Zgušnjivači održavaju strukturu namirnicama tako što povećavaju viskoznost kontinuirane faze

emulzije, dok se tvari za želiranje koriste za stvaranje gela u kontinuiranoj fazi emulzije. U prehrambenoj industriji najčešće korištena sredstva za zgušnjavanje i želiranje su polisaharidi ili proteini u U/V emulzijama i kristali masti u V/U emulzijama (McClements, 2015).

2.5.3. Fizikalna stabilnost emulzija

Pojam stabilnost emulzije koristi se za opisivanje sposobnosti emulzije da se odupre promjenama svojstava tijekom određenog vremenskog perioda, što je emulzija stabilnija to ona sporije mijenja svoja svojstva. Postoje različiti fizikalno – kemijski mehanizmi koji mogu biti odgovorni za promjene svojstava emulzija. Stvaranje emulzija homogenizacijom vrlo je dinamičan proces koji uključuje razbijanje kapljica i brzo kretanje površinski aktivnih tvari s dispergirane faze u međufazno područje. Nakon stvaranja emulzije, kapljice u emulziji se neprekidno kreću i često se sudaraju jedna s drugom zbog svog Brownovog gibanja, utjecaja sile teže ili naknadno primijenjene mehaničke sile. Neprekidno kretanje i interakcija kapljica s vremenom postaju uzrok razvijanja različitih fizikalnih mehanizama destabilizacije (Slika 8) (McClements, 2015).



Slika 8. Fizikalni procesi razdvajanja u emulzijama (Tadros, 2009)

Proces sedimentacije počinje zbog djelovanja vanjskih sila, najčešće sile teže ili centrifugalne sile. Ako je utjecaj vanjskih sila veći od sila koje uzrokuju Brownovo gibanje, doći će do nastanka koncentracijskog gradijenta koji će uzrokovati kretanje većih kapljica na površinu ukoliko je gustoća kapljica manja od gustoće disperznog sredstva ili kretanje većih kapljica prema dnu ako je gustoća kapljica veća od gustoće disperznog sredstva. Flokulacija i koalescencija predstavljaju dva oblika sjedinjavanja, tj. agregacije kapljica. Do flokulacije dolazi kada se dvije ili više kapljica sjedine i tako tvore agregat u kojem kapljice zadržavaju svoja svojstva, dok kod koagulacije dolazi do skupljanja dviju ili više kapljica kako bi se stvorila jedna veća kapljica. Flokulacija, za razliku od koagulacije, može biti povratna. Fazna inverzija predstavlja promjenu kod koje se emulzija ulje u vodi pretvara u tip emulzije voda u ulju, ili obrnuto. Oswaldovo zrenje je rezultat topljivosti tekućih faza. Kod polidisperznih emulzija kapljice manjeg promjera imaju veću topljivost od kapljica većeg promjera što s vremenom uzrokuje difundiranje manjih kapljica u veće kapljice (Tadros, 2009).

Svojstva sustava također se mogu s vremenom mijenjati zbog kemijskih reakcije poput oksidacije lipida i proteina te hidrolize proteina i polisaharida koje se javljaju u unutrašnjosti kapljica, međufaznom području ili u kontinuiranoj fazi. Izuzetno je važno uvažavanje dinamičkih procesa koji se javljaju u emulzijama hrane zbog razumijevanja njihovih fizikalno – kemijskih i organoleptičkih svojstava (Tadros, 2009).

2.5.4. Kinetička i termodinamička stabilnost emulzija

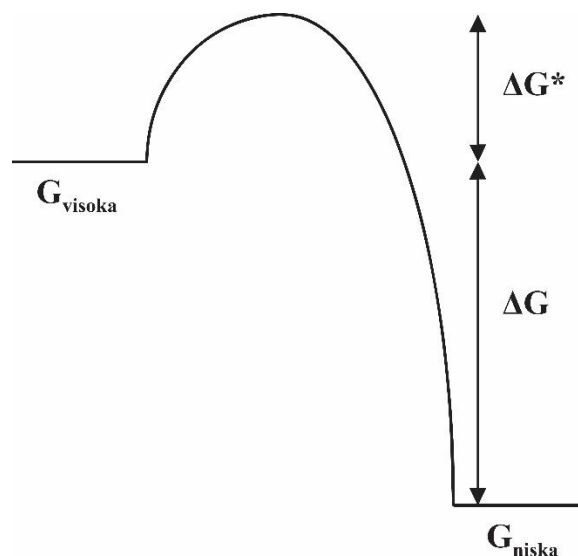
Važno je razlikovati termodinamičku i kinetičku stabilnost emulzija. Termodinamika opisuje hoće li doći do pojave određenog procesa ili ne, dok kinetika opisuje kojom brzinom će se taj proces odvijati. Sve emulzije u prehrambenim proizvodima predstavljaju termodinamički nestabilne sustave pri kojima će doći do raspada sustava ukoliko prođe dovoljno vremena (McClements, 2015).

Emulzija je sustav koji se sastoji od velikog broja molekula koje se nalaze u dva različita energetska stanja G_{niska} i G_{visoka} . Stanja s nižom slobodnom energijom je ono koje je energetski najpovoljnije i kojem molekule teže. U termodinamičkoj ravnoteži ta dva stanja su raspodijeljena

prema Boltzmanovoj raspodjeli gdje n_{visoka} i n_{niska} predstavljaju broj molekula koje se nalaze pri energetskim stanjima G_{niska} i G_{visoka} , k je Boltzmannova konstanta ($k = 1,38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$), a T apsolutna temperatura (Atkins, 1994) (2):

$$\frac{n_{visoka}}{n_{niska}} = \exp \left(-\frac{G_{visoka} - G_{niska}}{kT} \right) \quad (2)$$

Što je veća razlika između dvije razine slobodne energije u odnosu na toplinsku energiju sustava (kT), to je veći udio molekula koji se nalazi u nižem energetskom stanju. Sustav možda neće moći postići ravnotežu tijekom određenog vremena zbog prisutnosti barijere koju predstavlja slobodna energija ΔG^* (Slika 9). Sustav u stanju visoke slobodne energije (G_{visoka}) mora dobiti veću slobodnu energiju od vrijednosti ΔG^* prije nego što stanje sustava prijeđe u stanje niske energije (G_{niska}). Brzina kojom se transformacija sustava iz visokog stanja energije promijeni u stanje nižeg energetskog stanja je niža to što je barijera za prolaz iz višeg stanja u niže viša. Kada je razlika slobodnih energija izrazito velika, sustav ostaje u termodinamički nepovoljnom stanju tijekom dugog vremenskog perioda. Sustav se u takvom slučaju naziva kinetički stabilnim ili međustabilnim. Kod emulzija prehrambenih proizvoda postoji veliki broj međustabilnih stanja između početne emulzije i potpuno odvojenih faza (McClements, 2015).



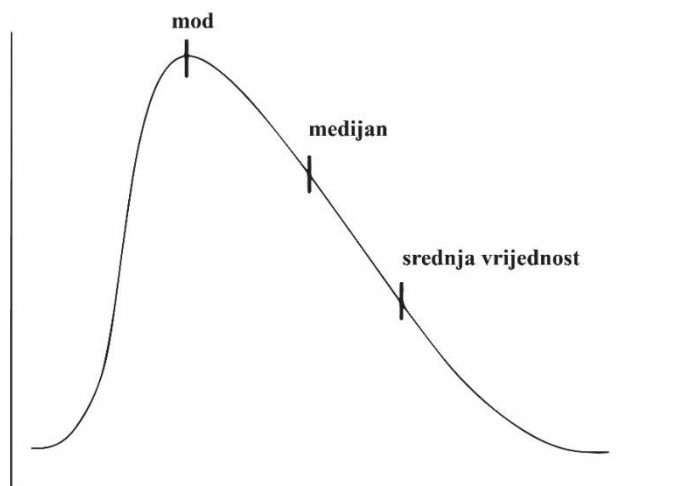
Slika 9. Shematski prikaz razlike između termodinamičke i kinetičke stabilnosti (McClements, 2015)

2.6. RASPODJELA VELIČINE ČESTICA

Veličina čestica utječe na mnoga svojstva disperznih sustava i vrijedan je pokazatelj kvalitete prehrambenih proizvoda. Veće sferične čestice će strujati lakše od manjih čestica ili čestica nepravilnog oblika. Manje čestice se otapaju brže i dovode do većih vrijednosti viskoznosti, imaju veći elektrokinetički potencijal, tj. električni naboj koji se javlja na granici difuznog sloja čestica i daje veću stabilnost suspenzijama ili emulzijama (Allen, 2003).

Postoji veliki broj različitih prosječnih ili srednjih veličina koje mogu biti definirane za danu raspodjelu čestica. Svrha takvih mjerenja je prikazati sastav čestica jednom brojkom koja naravno ne daje naznake širine distribucije, ali mogu ponekad pružiti korisne podatke za kontrolu pojedinih procesa. Tri su najvažnije mjere središnje tendencije za određenu raspodjelu veličine čestica: mod, medijan i srednja vrijednost (Slika 10) (Svarovsky, 2001).

Mod je definiran kao vrijednost koja se najčešće pojavljuje u podacima ili rezultatima, prikazana kao pik na krivulji frekvencijske raspodjele (monomodalna distribucija). Neki rezultati mogu imati više od jednog moda. To se događa kada rezultati imaju dvije ili više vrijednosti koje se više puta ponavljaju te se takve raspodjele nazivaju multimodalnim distribucijama (Manikandan, 2011).



Slika 10. Relativna pozicija moda, medijana i srednje vrijednosti (Manikandan, 2011)

Medijan je vrijednost koja se nalazi na srednjem mjestu rezultata poredanih po veličini. On dijeli distribucijsku krivulju na dvije polovice, što znači da je 50 % rezultata manje od vrijednosti medijana, a 50 % je veće. Srednja veličina je matematička veličina do koje se dolazi zbrajanjem svih vrijednosti i dijeljenjem zbroja s brojem vrijednosti (Manikandan, 2011).

Postoji više srednjih promjera (Tablica 2) koji se mogu definirati za određenu distribuciju veličina čestica koji su definirani preko funkcije (3) :

$$g(\bar{x}) = \int_0^{\infty} g(x)f(x)dx \quad (3)$$

gdje $f(x)$ predstavlja funkciju distribucije veličine čestica po broju čestica, polumjeru, volumenu ili masi.

Tablica 2. Podjela srednjih promjera (Svarovsky, 2000)

Funkcija $f(x)$	Srednji promjer	Oznaka
$g(x) = x$	aritmetički	xa
$g(x) = x^2$	kvadratni	xq
$g(x) = x^3$	kubični	xk
$g(x) = \log x$	geometrijski	xg
$g(x) = x^{-1}$	harmonični	xh

Normalna raspodjela je simetrična zvonolika krivulja poznata kao i Gaussova krivulja. To je dvoparametarska funkcija, jedan od parametara je srednja vrijednost x , koji se zbog simetrične krivulje podudara s modom i medijanom, a drugi parametar je standardna devijacija σ , koja predstavlja mjeru širine distribucije. Normalna distribucija prikazana je funkcijom (4) gdje d predstavlja promjer čestice [m], a \bar{d} [m] srednju vrijednost promjera čestica:

$$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi \ln \sigma}} \exp \left(- \left[\frac{\ln d - \ln \bar{d}}{\sqrt{2 \ln \sigma}} \right]^2 \right) \quad (4)$$

3 EKSPERIMENTALNI DIO

3.1 MATERIJALI

Kod izvedbe eksperimentalnog dijela diplomskog rada koristio se je smoothie pripremljen od jabuke sorte "Zlatni delišes", cikle i mrkve uz dodatak sezamovog ulja proizvođača „Nutrigold“. Sirovine su se čuvale u hladnjaku na temperaturi od 4 °C i prije početka pripreme uzoraka temperirane su na sobnu temperaturu (20 °C).

3.2 METODE RADA

3.2.1 Priprema smoothieja

Priprema smoothieja započela je pranjem i čišćenjem sirovina, jabukama se je uklonila klica i sjemena loža dok se je mrkvi i cikli uklonio površinski sloj. Slijedilo je cijedenje namirnica pomoću sokovnika. Za pripremu smoothieja korištena su dva različita sokovnika kako bi se maksimalno povećala iskoristivost sirovina. Za cijedenje jabuka korišten je "TEFAL Infinity Press Revolution ZC500H38" (Francuska) promjera filtera 0,5 mm, snage 300 W, a za cijedenje mrkve i cikle korišten je sokovnik "BOSCH MES4000" (Njemačka) (Slika 6), promjera filtera 0,5 mm, snage 1000 W. Sokovnici su prije svake upotrebe bili detaljno očišćeni i osušeni kako ne bi došlo do kontaminacije. Svježe dobivenom soku uklonjena je pjena. Uzorak je pripremljen od soka cikle, jabuke i mrkve u omjeru 20 / 30 / 50 %. Uzorcima je dodano 0,5 ili 1 mL sezamovog ulja na 100 mL soka, dok se referentim uzorcima nije dodavalo ulje. Dobiveni smoothie je nakon toga bio podvrgnut tretmanu ultrazvukom, visokom hidrostatskom tlaku i pasterizaciji.

3.2.2 Obrada ultrazvukom

Za tretman ultrazvukom koristio se uređaj "Dr. Hielscher UP100H" (Njemačka) (Slika 11) snage 100 W i konstantne frekvencije 30 kHz. Obrada uzoraka smoothieja ultrazvukom provedena je pri 2, 6 i 10 minuta, dok se izlazna snaga ultrazvuka kontrolirala amplitudama od 60 % i 100 %, sondama promjera 7 i 10 mm pri punom ciklusu. Prvih 30 sekundi svakog tretmana sonda je

uronjena samo površinski nekoliko milimetara kako bi došlo do ravnomjernije homogenizacije ulja unutar uzoraka smoothieja, a ostatak obrade je proveden sa dubinom urona sonde od 2 cm.



Slika 11. Ultrazvuk visokog intenziteta „*dr. Hielscher UP 100H*“, Njemačka (Hielscher, 2020)

3.2.3 Obrada visokim hidrostatskim tlakom

Za obradu smoothieja visokim hidrostatskim tlakom korišten je uređaj „*Stansted Fluid Power*“, Velika Britanija (Slika 12), maksimalnog tlaka 1200 MPa i volumena 2 L. Volumen tretiranih uzoraka iznosio je 100 mL, svi uzorci su se nalazili u plastičnim bočicama napunjenim do vrha i zatvorenim plastičnim čepom, koje su bile stavljene u radni cilindar, volumena 2 L, ispunjen tlačnom tekućinom (propilen - glikol). Prije obrade uzorci u napunjenim plastičnim bočicama su vakuumirani u jednokratnu ambalažu. Vakuumiranje je provedeno na uređaju „*STATUS SV2000*“. Duljina obrade uzoraka je iznosila 3, 9 i 15 minuta pri tlakovima od 150, 300 i 450 MPa.



Slika 12. „*Stansted Fluid Power*“ Velika Britanija, uređaj za obradu visokim hidrostatskim tlakom (vlastita fotografija)

3.2.4 Pasterizacija

Pasterizacija je provedena u pasterizatoru „*PS 100*“, Hrvatska, volumena 100 L, priključnog napona od 400 V i snage grijača 6,5 kW. 450 mL uzorka nalazilo se u zatvorenim staklenim bocama od 500 mL koje su bile stavljene u vodenu kupelj na temperaturu od 85 °C u vremenskom periodu od 5 minuta.

3.2.5 Mjerenje apsorbancije

Mjerenje apsorbancije izvedeno je pomoću spektrofotometra „*Konica Minolta CM3500d*“, Japan. Kalibracija uređaja je provedena prije mjerenja apsorbancije uzoraka uporabom destilirane vode. Uzorak je bio napunjen do oznake u stakene kivete širine 1 cm. Uzorcima smoothieja izmjerena je apsorbancija pri valnoj duljini od 740 nm. 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. Apsorbancija je mjerena prije i neposredno nakon tretmana ultrazvukom visokog intenziteta, visokim hidrostatskim tlakom i pasterizacijom. Intervalna stabilnost izražena je preko vrijednosti apsorbancije izmjerene nakon 2 sata, dok je za

izračunavanje ISS (indeks stabilnosti smoothieja) u modelu korištena vrijednost apsorbancije nakon 24 sata.

3.2.6 Određivanje indeksa stabilnosti smoothieja (ISS)

Na temelju izmjerenih vrijednosti apsorbancije pri 740 nm neposredno nakon obrade i nakon 24 sata, izračunate su vrijednost Indeksa stabilnosti smoothieja (ISS) [h] (Bosiljkov, 2011).

3.2.7 Određivanje raspodjele veličine čestica

Raspodjela veličine čestica određena je prije i nakon obrade uzoraka smoothieja uređajem „*Malvern Mastersizer 2000*“, Velika Britanija. Uzorak se uvodi u uređaj pomoću plastične šprice ili pipete. Uzorak ulazi u optički sustav uređaja unutar kojeg se snima spektar raspršene svjetlosti. Unutar mjerne ćelije čestice raspršuju svjetlost laserske zrake u obrnuto proporcionalnom kutu u odnosu na njihovu veličinu. Fotoosjetljivi senzori mjere intenzitet svjetlosti. Tijekom svakog mjerenja uređaj bilježi oko 2000 snimaka koje uređaj uspoređuje i računa srednju vrijednost. Dobiveni rezultati se obrađuju koristeći se „Fraunhoferovom“ ili „Mie“ teorijom. Osim He – Ne lasera (svjetlost crvene boje), osjetljivost je povećana izvorom plave svjetlosti manje valne duljine što povećava mjerni raspon od 0,02 do 2000 μm

3.2.8. Mikroskopiranje

Uzorci su mikroskopirani pomoću svjetlosnog mikroskopa „Leica DM1000 LED“, Njemačka, pri povećanju 400 \times . Slike uzoraka snimljene su digitalnom kamerom visoke rezolucije.

3.2.9. Statistička obrada

Rezultati su obrađeni programskim paketom „Statistica 12“, Informer Tehcnologies, SAD. Statistička značajnost utjecaja procesnih parametara na parametre deskriptivne statistike određena je analizom varijance (ANOVA) preko p – vrijednosti ($p < 0,05$).

4 REZULTATI I RASPRAVA

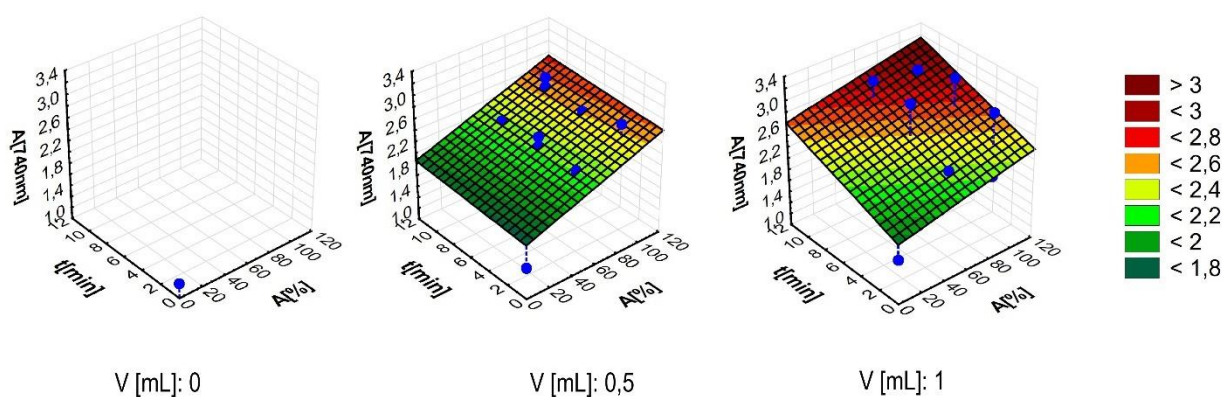
Cilj ovog diplomskog rada bio je usporediti netoplinske metode kao što su ultrazvuk visokog intenziteta i visoki hidrostatski tlak sa konvencionalnom metodom pasterizacije u smislu ispitivanja utjecaja dodanog ulja unutar višekomponentnog sustava smoothieja i objasniti utjecaj različitog volumena ulja na povećanje stabilnosti unutar faza smoothieja definiranih intervalom raspodjele čestica.

Nakon tretmana određena su sljedeća fizikalna svojstva: apsorbancija uzorka , apsorbancija nakon 2 h (intervalna apsorbancija), apsorbancija nakon 24 h, stabilnost uzoraka izražena preko izračunatih vrijednosti indeksa stabilnosti smoothieja (ISS), raspodjela veličine čestica neposredno nakon obrade. Polazna pretpostavka je bila dobivanje proizvoda s minimalnim promjenama uz dulju stabilnost disperzne faze unutar disperznog sredstva.

Utjecaj promjene procesnih parametara prikazan je pomoću 3D – kategorijskih dijagrama (Slike 13 – 16, 20 – 23). Statistička značajnost razine promjene fizikalnih svojstava prikazana je u tablicama 3 i 5. Raspodjela veličina čestica prikazana je frekvencijskim krivuljama odnosa relativne učestalosti o promjeru čestica (Slike 17 – 19 i 24 – 26). Raspršenost dodane uljne faze prikazana je mikroskopskim slikama u tablicama 4 i 6. Oznaka uzorka obrađenih ultrazvukom visokog intenziteta (UVI): *amplituda_promjer_sonde_vrijeme_obrade_volumen_dodanog_ulja*. Oznaka uzoraka obrađenih visokim hidrostatskim tlakom (VHT): *tlak_vrijeme_obrade_volumen_dodanog_ulja*. Referentni uzorci (pasterizacija) na 3D dijagramima prikazani su oznakom „0“.

Tablica 3: Statistička značajnost ($p < 0,05$) procesnih parametara ultrazvuka visokog intenziteta na promatrana fizikalna svojstva smoothieja

UVI FIZIKALNA SVOJSTVA/PROCESNI PARAMETRI	A[%]	d [mm]	t [min]	V _{ulja} [ml]
A ₇₄₀	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
A ₇₄₀ (2 h)	0,000000	0,000000	0,000000	0,124720
ISS [h]	0,508766	0,003225	0,000000	0,000000

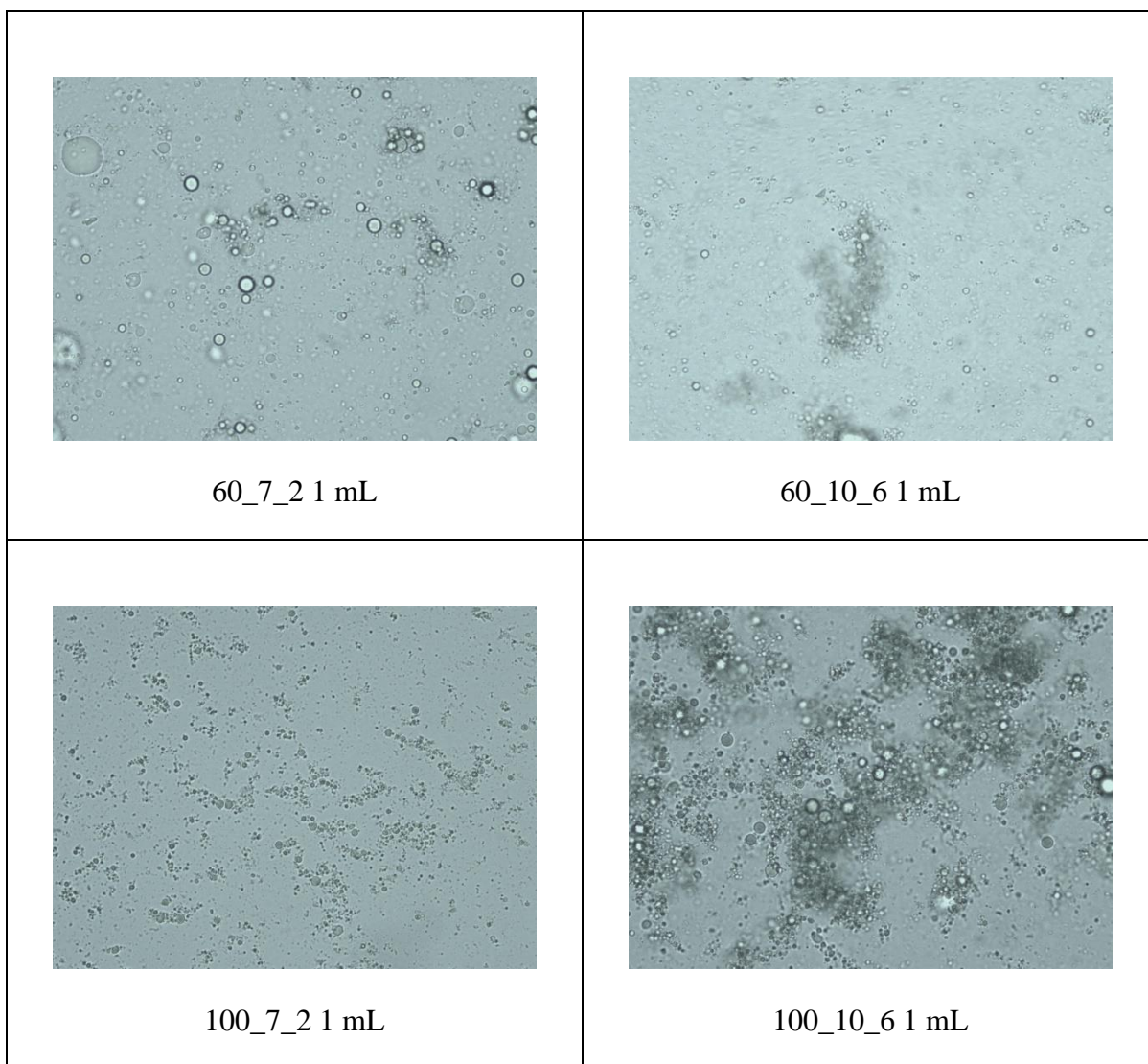


Slika 13. Utjecaj vremena obrade i amplitude na promjenu **apsorbancije (A₇₄₀ 2h)** kategorizirano prema volumenu dodanog ulja nakon obrade **UVI**

Vrijednosti izmjenjenih apsorbancija smoothieja tretiranog ultrazvukom pri valnoj duljini od 740 nm sa dodanim uljem prikazane su na Slici 13. Mjerenje apsorbancije je pokazalo kako povećanje vrijednosti procesnih parametara ultrazvuka visokog intenziteta djeluje sinergistički te posljedično dolazi do povećanja apsorbancije. Najviše vrijednosti apsorbancije postižu se primjenom sonde od 10 mm pri maksimalnoj amplitudi (100 %) i duljim vremenima obrade (6 i 10 min).

Iz dobivenih vrijednosti provedene statističke analize vidljivo je kako vrijednosti apsorpcije zadržavaju i pokazuju trend utjecaja na povećanje stabilnosti tijekom duljeg perioda od 2 h. Mjerenjem intervalne apsorpcije, nakon 2 h, vidljivo je da dodano ulje ne zadržava očekivanu razinu stabilnosti unutar sustava ($p > 0,05$) (Tablica 3). Porast vrijednosti apsorpcije posljedica je kavitacije nastale tijekom tretiranja ultrazvukom koja je uzrok koloidne raspršenosti, disperzije, razgradnje makromolekula i posljedično stabilnijeg uzorka (Abid, 2013).

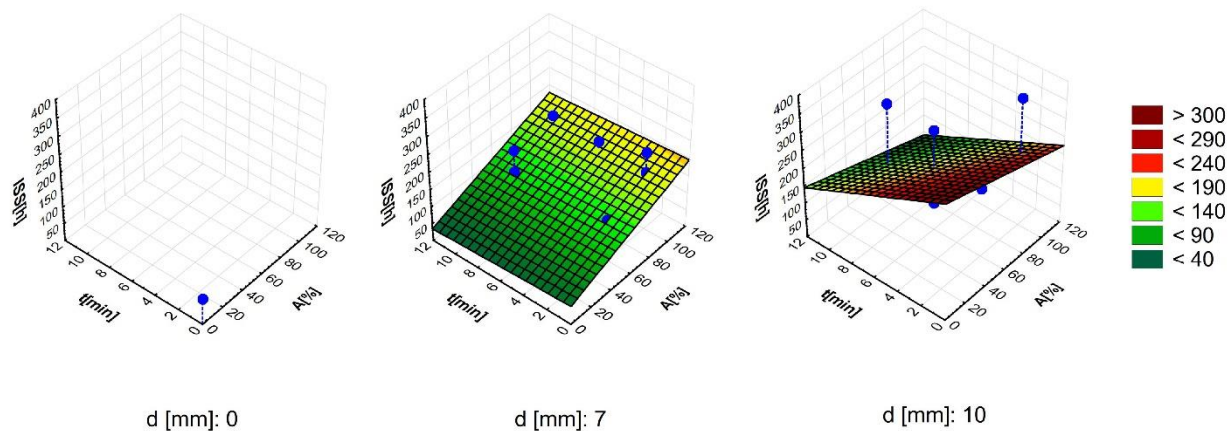
Tablica 4: Mikroskopske slike uzoraka smoothieja tretiranih ultrazvukom visokog intenziteta s dodanom uljnom fazom.



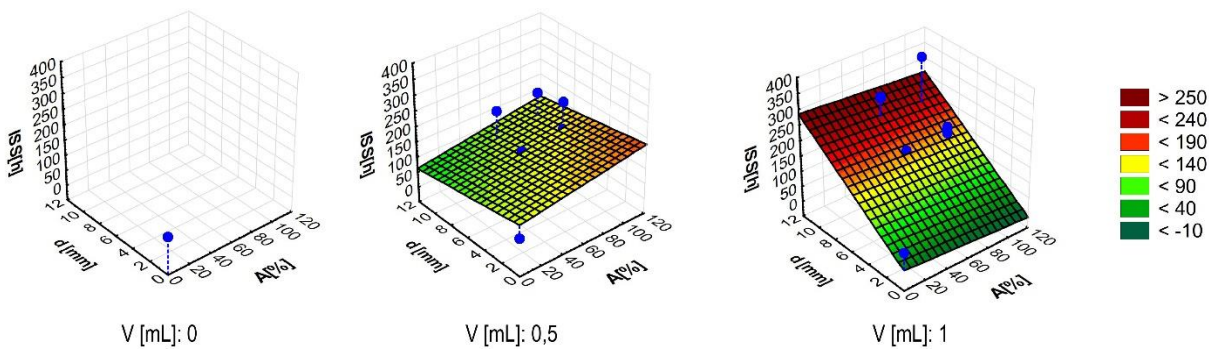
Smoothie je disperzni sustav građen od disperzne faze čiji sastojci su pulpa i ulje raspršeni u disperznom sredstvu, tj. vodi koja se sastoji od otopljenih makromolekula poput pektina i molekula malih molekulskih masa poput šećera, organskih kiselina, soli i drugih (Mollov i sur., 2006). Raspršene čestice su dijelovi tkiva, cijelih i oštećenih stanica i njihovih strukturnih dijelova čije su stijenke netopljive (Augusto i sur., 2012).

Strukturne promjene čestica smoothieja uzrokovane ultrazvukom prikazane su mikroskopskim slikama (Tablica 4) i i raspodjelom veličine čestica (Slike 17 – 19). Promjene uzrokovane ultrazvukom uključuju oštećenja stanica, oslobađanje unutarstaničnog sadržaja, smanjenje veličine čestica, cijepanje većih molekula i raspršivanje čestica. Ove promjene mogu uzrokovati različite mehanizme uzrokovane kavitacijom, povezane s promjenama i svojstvima raspršene i kontinuirane faze koji rezultiraju različitim ponašanjem višekomponentnog sustava (Rojas, 2016).

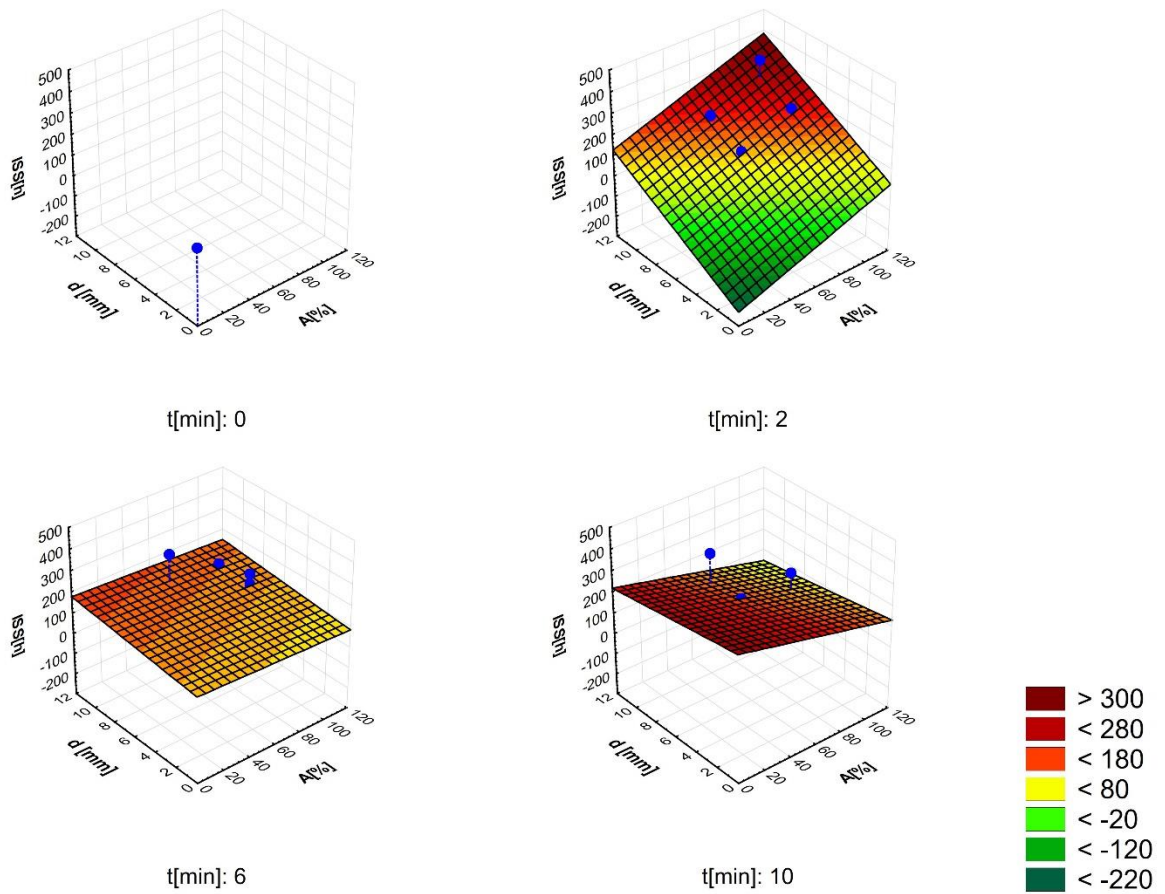
Promjene do kojih dolazi zbog nastanka manjih čestica podrijetlom iz staničnih fragmenata su važnije od promjena nastalih kod većih čestica, tj. cijelih stanica. Smanjenjem veličina čestica dolazi do povećavanja ukupne površine i dolazi do povećanja volumnog udjela dispergirane faze (Gaikwad i Pandit, 2008). Dolazi i do povećanja interakcija čestica – čestica i serum – čestica (Augusto i sur., 2012). Obradom ultrazvukom očekuje se smanjenje veličina čestica i homogenija raspodjela. Međutim, to uključuje i druge pojave koje utječu na veličinu i raspodjelu čestica pa prema prema tome ta raspodjela nije uvijek izravno proporcionalna vremenu obrade.



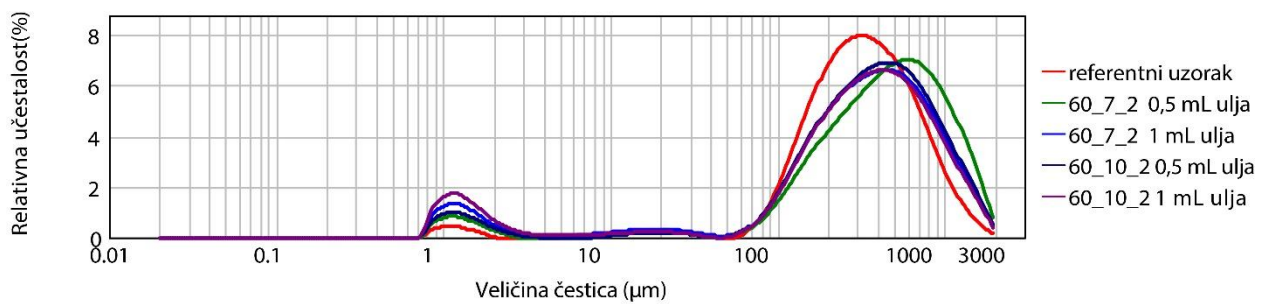
Slika 14. Grafički prikaz utjecaja vremena tretiranja i amplitude na promjenu ISS (**h**) nakon obrade UVI - kategorizirano prema promjeru sonde



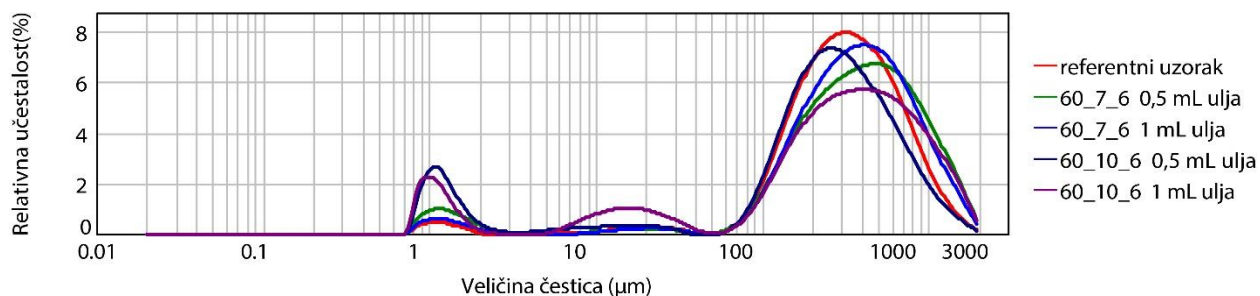
Slika 15. Grafički prikaz utjecaja veličine sonde i amplitude na promjenu ISS (**h**) nakon obrade UVI - kategorizirano po volumenu dodanog ulja



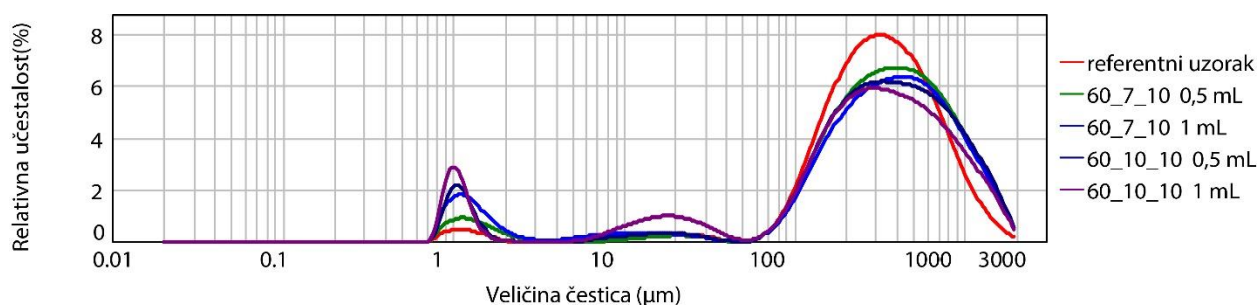
Slika 16. Grafički prikaz utjecaja veličine sonde i amplitude na promjenu ISS (**h**) nakon obrade UVI - kategorizirano po vremenima tretiranja



Slika 17. Raspodjela veličine čestica [μm] smoothieja tretiranog UVI pri vremenu obrade od 2 minute u ovisnosti o relativnoj učestalosti [%]



Slika 18. Raspodjela veličine čestica [μm] smoothieja tretiranog UVI pri vremenu obrade od 6 minuta u ovisnosti o relativnoj učestalosti [%]



Slika 19. Raspodjela veličine čestica [μm] smoothieja tretiranog UVI pri vremenu obrade od 10 minuta u ovisnosti o relativnoj učestalosti [%]

Pomoću indeksa stabilnosti smoothieja (ISS [h]) izražena je stabilnost smoothieja. Proporcionalno s rastom vrijednosti ISS produljuje se i period stabilnost. Iz slike 16 vidljivo je kako su najviše vrijednosti ISS dobivene kod uzoraka obrađenih u vremenu od 2 minute i uzorcima s većim volumenom sezamovog ulja (1 mL) što je u skladu sa padom intervalne stabilnosti nakon 2 sata. (Slika 15). Takve uzorke karakterizira vrijednost ISS koja iznosi do 362 sata. Volumen dodanog sezamovog ulja je važan zbog toga što tijekom tretmana ultrazvukom dolazi do razbijanja uljnih kapljica, povećanja njihove specifične površine i njihove ravnomjernije raspodjele oko različitih komponenata koje čine smoothie. Ovaj efekt nešto je izraženiji primjenom sonde promjera 10 mm čime se postižu i nešto veće vrijednosti ISS (Slika 14). Promatrajući mikroskopske slike vidljivo je nakupljanje globula ulja unutar dispergirane faze i tekuće faze (Tablica 4).

U istraživanju provedenom od strane Abismail i sur. (1999), ultrazvuk visokog intenziteta uzrokuje smanjenje veličina globula ulja do $0,3 \mu\text{m}$ čime je povećana stabilnost emulzije bez dodatka površinski aktivnih tvari. Rezultati raspodjele veličine čestica uzoraka tretiranih u vremenu od 2 minute (Slika 17) pokazuju kako je tretman uzrokovao povećanje udjela čestica veličine $0,7 - 3 \mu\text{m}$ u odnosu na referentni uzorak i smanjenje udjela čestica veličine između $50 - 2000 \mu\text{m}$. Sukladno tome dolazi do povećanja volumnog udjela čestica, interakcija čestica - čestica i čestica - serum te smanjenja raspoloživog prostora za protok kontinuirane faze, što rezultira manjom brzinom taloženja unutar sustava i povećanja stabilnosti. Slične rezultate dobili su Bi i sur. (2015), gdje se tretmanom ultrazvukom u trajanju 1 minute prosječna veličina čestica pirea od avokada smanjila s $52,32 \mu\text{m}$ na $13,44 \mu\text{m}$. Pozitivni rezultati dobiveni su i od strane Campoli i sur., (2018) tretiranjem soka od guave. Netretirani uzorak pokazivao je stabilnost do 2 dana, dok kod uzoraka tretiranih 9 minuta nije došlo do sedimentacije pulpe tijekom 14 dana. Kinetički parametar sedimentacije (K) iznosio je $9,94 \text{ dan}^{-1}$ za referentni uzorak, dok je kod uzoraka tretiranih 3 minute vrijednost K smanjila na $1,76 \text{ dan}^{-1}$, a kod uzoraka tretiranih 9 minuta na $0,98 \text{ dan}^{-1}$. Tretman ultrazvukom značajno je djelovao na smanjenje veličine čestica uzoraka soka od kivija u istraživanju koje su proveli Wang i sur. (2020). Značajno smanjenje čestica (23 %), s prosječne veličine čestica netretiranog uzorka soka u vrijednosti od $1417,67 \text{ nm}$ na prosječnu veličinu čestica od $1087,71 \text{ nm}$, izmjereno je već nakon 4 – minutnog ultrazvučnog tretmana. Najveće smanjenje čestica zabilježeno je kod uzoraka tretiranih 16 minuta u vrijednosti od 36,24 %.

Kod uzoraka tretiranih 6 minuta vidljiv je porast broja čestica u intervalu od $10 - 100 \mu\text{m}$ (Slika 18) kao i porast udjela najmanjih čestica kod uzoraka s dodanim volumenom ulja od 1 mL. Uzorci tretirani maksimalnim izlaznim intenzitetom (100 %) imaju veći udio čestica u intervalu $10 - 100 \mu\text{m}$. Promatrajući rezultate ISS-a vidljivo je kako su najveću stabilnost u vrijednosti između 182 i 286 sati postigli uzorci s većim dodanim volumenom ulja (Slika 15). Iz mikroskopskih slika (Tablica 4) vidljivo je nakupljanje kapljica ulja unutar pulpe, no vidljiva je i agregacija većih nakupina pulpe što negativno utječe na stabilnost. Kavitacija je uzrok smanjenja veličine kapljica ulja i njihovo integriranje unutar same pulpe. Smanjenje stabilnosti u odnosu na tretman od 2 minute može biti i posljedica smještanja manjih čestica između velikih i postizanja negativnog efekta lubrikacije. Rojas i sur. 2016. godine tretirali su sok od breskve ultrazvukom visokog intenziteta gdje je nakon tretmana u trajanju od 3 minute došlo do sitnih puknuća stanica i disperzije unutarstaničnih komponenata u serum. Ovi su učinci posljedica induciranih posmičnih naprezanja

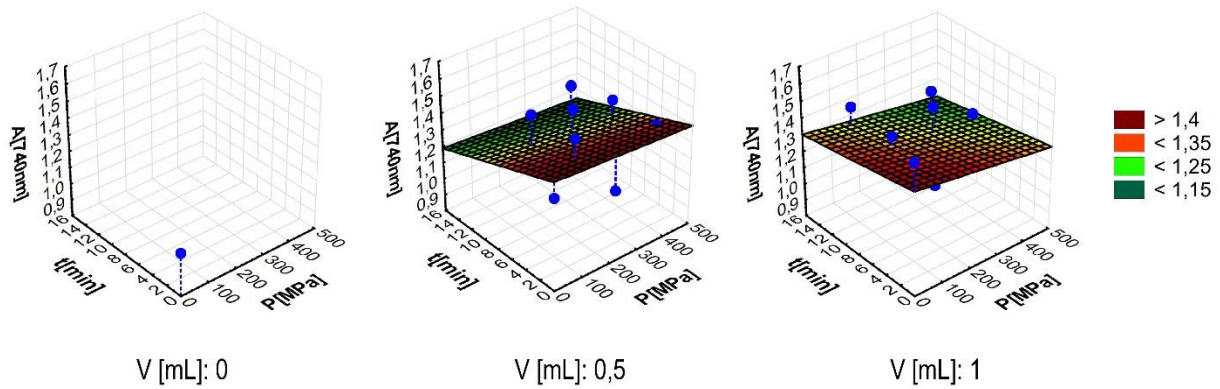
i kavitacije, ali ne samo izvan stanice već i u samoj stanici. Produljenjem vremena tretiranja došlo je do nastanka većih mehaničkih oštećenja. Ruptura stanične stjenke bila je naglašenija i dolazi do značajnijeg izlaska unutarstaničnih komponenata iz stanice. Uzorci soka od breskve tretirani 3, 6, 9 i 15 minuta pokazali su povećanje vrijednosti stabilnosti, no najveća stabilnost u vrijednosti od 21 dana dobivena je tretmanom u trajanju od 6 minuta.

Kod uzoraka tretiranih 10 minuta vidljiva je izrazita nestabilnost sustava unatoč porastu učestalosti čestica promjera manjeg od 1 μm (Slika 19). Indeks stabilnosti kod tih uzoraka je značajno manji nego kod uzoraka tretiranih 2 i 6 min (Slika 16). Najveća stabilnost postignuta je kod uzoraka s dodanih 1 mL ulja (Slika 15) i korištenjem sonde promjera 10 mm (Slika 14). Uzorci tretirani pri većem izlaznom intenzitetu pokazuju veći udio manjih čestica promjera 0,04 – 4 μm i manju stabilnost. Od svih uzoraka tretiranih 10 minuta može se izdvojiti uzorak 60_10_10_1ml koji pokazuje veliku stabilnost u trajanju od 290 h na čijoj multimodalnoj krivulji se može vidjeti porast čestica promjera 100 – 2000 μm .

Dobiveni rezultati pokazuju mogućnost korištenja ultrazvuka visokog intenziteta za poboljšanje stabilnosti pulpe u smoothiejima te voćnim i povrtnim sokovima. Istraživanje Rojas i sur. iz 2016. ukazuje kako ultrazvuk može zamijeniti upotrebu hidrokoloida i samim time smanjiti upotrebu aditiva i povećati ekonomske dobitke.

Tablica 5: Statistička značajnost ($p < 0,05$) procesnih parametara visokog hidrostatskog tlaka na promatrana svojstva smoothieja.

HHP FIZIKALNA SVOJSTVA/PROCESNI PARAMETRI	P[MPa]	t [min]	V _{ulja} [ml]
A ₇₄₀	0,212756	0,000037	0,337461
A ₇₄₀ (2 h)	0,001579	0,279763	0,003331
ISS [h]	0,000003	0,000000	0,018141

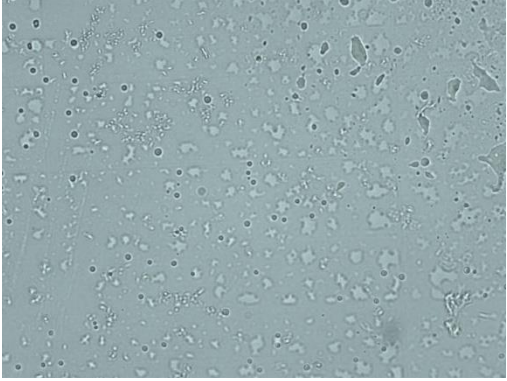
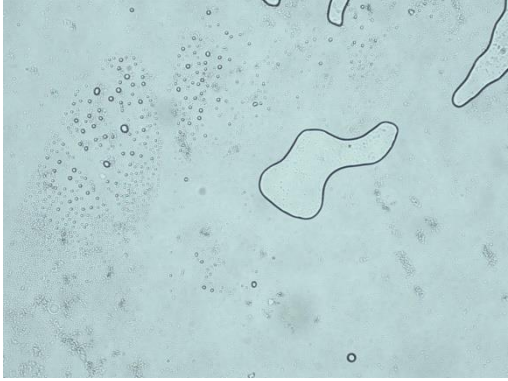
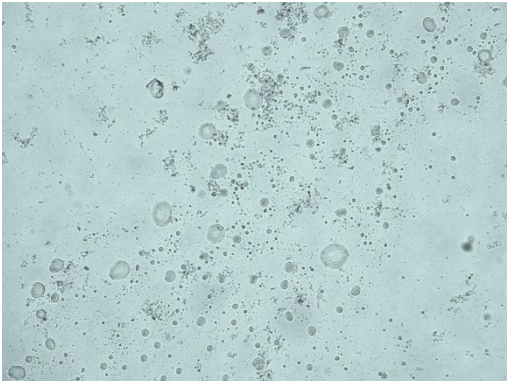
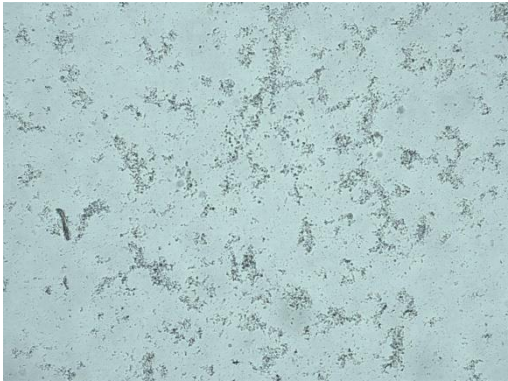


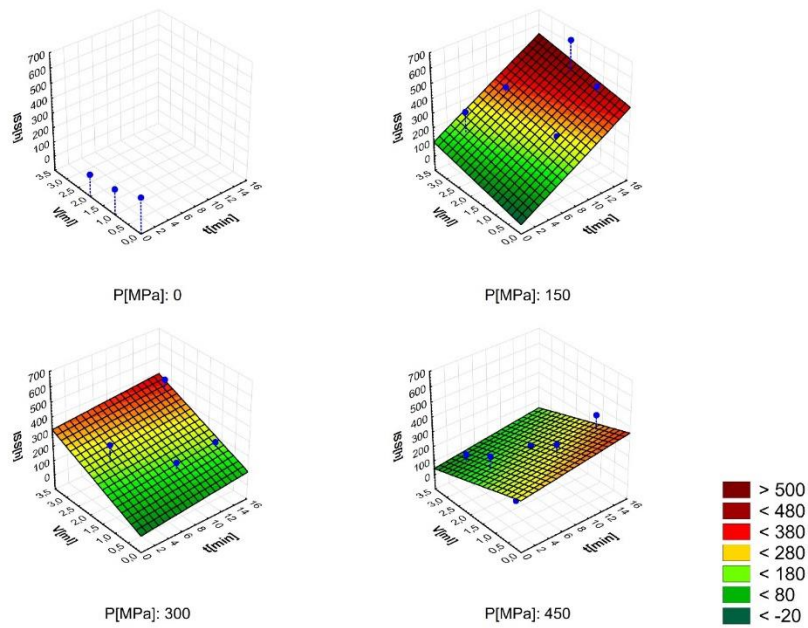
Slika 20. Utjecaj vremena obrade i tlaka na promjenu **apsorbancije (A₇₄₀ 2h)**, kategorizirano prema volumenu dodanog ulja nakon obrade **VHT**

Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka na promjenu vrijednosti apsorbcije (A₇₄₀) uzoraka smoothieja prikazan je na slici 20. Utjecaj dodanog ulja ne pokazuje statistički značajan utjecaj (Tablica 5) na promjenu apsorbcije neposredno nakon obrade. Sustav pokazuje povećanje intervalne stabilnosti nakon 2 h, što se može vidjeti i u nešto ravnomjernijoj raspodijeli uljnih kapljica (0,5 i 1 ml) unutar promatrane površine uzorka (Tablica 6).

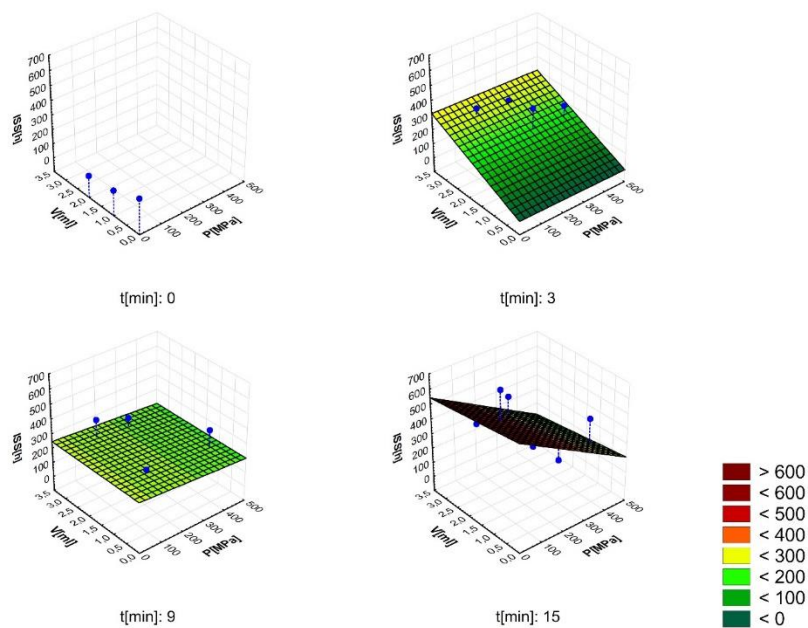
Visoke vrijednosti apsorbcije uzoraka tretiranih ultrazvukom visokog intenziteta ukazuju posljedično na veliku stabilnost uzoraka, ali i prednost ultrazvuka, kojim se dobivaju vrijednosti apsorbcije 2 puta veće od onih dobivenih visokim hidrostatskim tlakom i 2 – 3 puta veće vrijednosti od toplinske metode pasterizacije.

Tablica 6: Mikroskopske slike uzoraka smoothieja tretiranih visokim hidrostatskim tlakom s dodanom uljnom fazom.

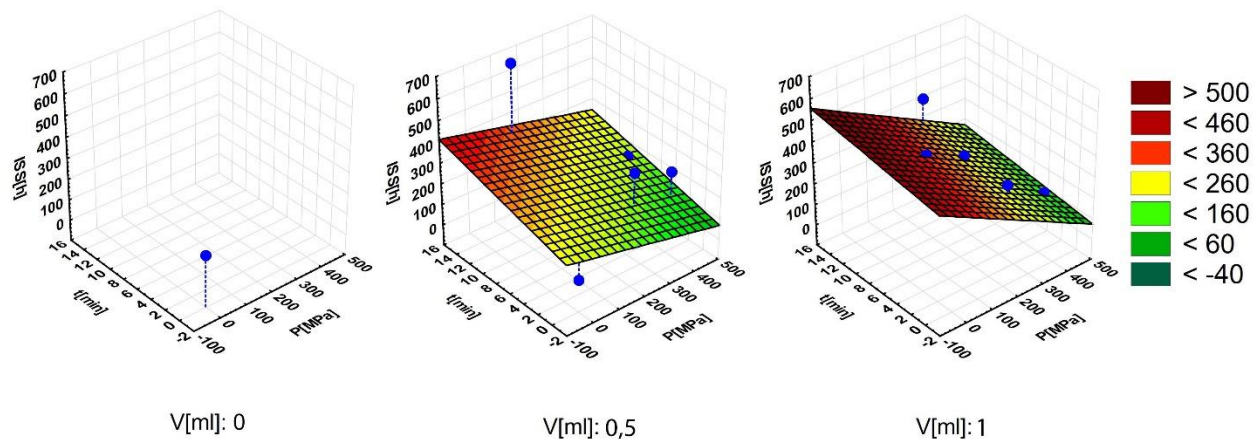
 <p data-bbox="402 793 607 831">150_9_0,5 mL</p>	 <p data-bbox="1036 793 1240 831">150_15_0,5 mL</p>
 <p data-bbox="402 1310 607 1348">450_9_0,5 mL</p>	 <p data-bbox="1036 1310 1240 1348">450_15_0,5 mL</p>



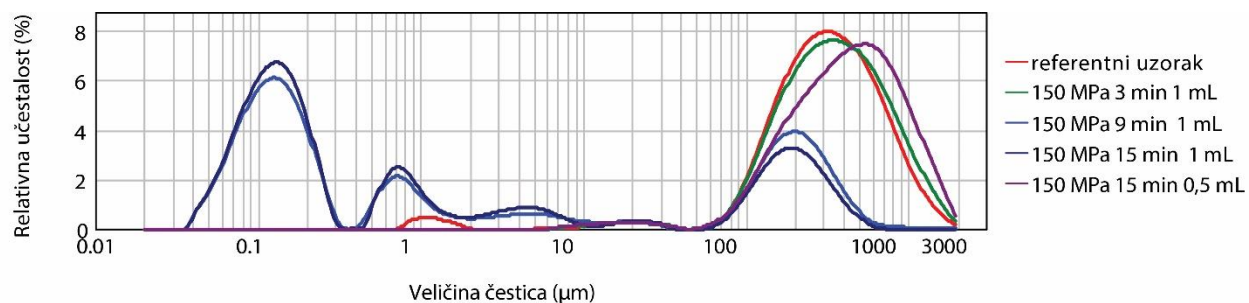
Slika 21. Grafički prikaz utjecaja vremena tretiranja i volumena dodanog ulja na promjenu **ISS** (h) nakon obrade **VHT** - kategorizirano prema tlaku



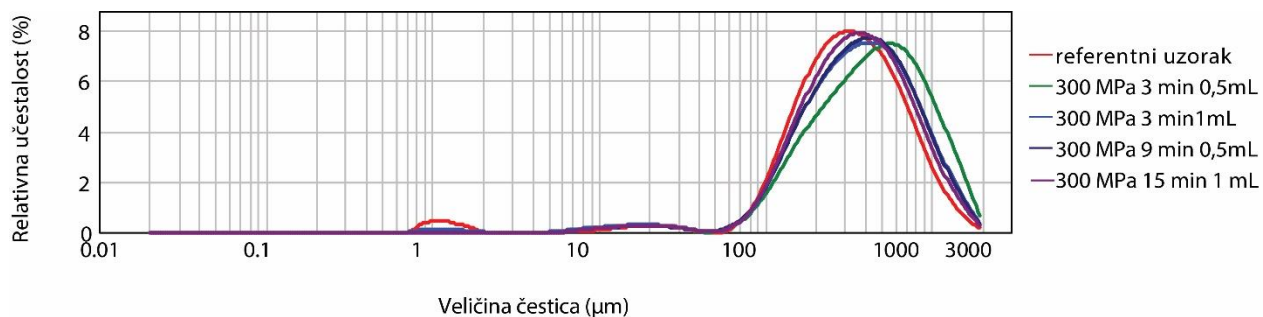
Slika 22. Grafički prikaz utjecaja volumena dodanog ulja i tlaka na promjenu **ISS** (h) nakon obrade **VHT** - kategorizirano prema vremenu tretiranja



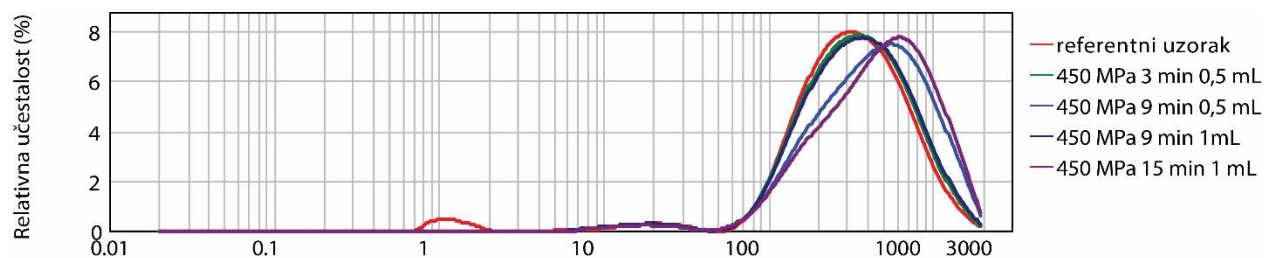
Slika 23. Grafički prikaz utjecaja vremena tretiranja i tlaka na promjenu **ISS (h)** nakon obrade **VHT** - kategorizirano prema volumenu dodanog ulja



Slika 24. Raspodjela veličine čestica [μm] smoothieja tretiranog **VHT** pri tlaku od 150 MPa u ovisnosti o relativnoj učestalosti [%]



Slika 25. Raspodjela veličine čestica [μm] smoothieja tretiranog **VHT** pri tlaku od 300 MPa u ovisnosti o relativnoj učestalosti [%]



Slika 26. Raspodjela veličine čestica [μm] smoothieja tretiranog **VHT** pri tlaku od 450 MPa u ovisnosti o relativnoj učestalosti [%]

Analizom multimodalnih krivulja uzoraka tretiranih visokim hidrostatskim tlakom od 150 MPa vidljiva je povećana učestalost čestica veličina 0,02 – 10 μm (Slika 24). Manje čestice doprinose većoj stabilnosti smoothieja. Najveća vrijednost ISS postignuta je u vremenu obrade od 15 minuta gdje vrijednost ISS iznosi 660 sati (Slika 22). Uzorci tretirani tlakom od 150 MPa s dodanim volumenom ulja od 1 mL imaju veliki indeks stabilnosti pri vremenima tretiranja od 3, 9 i 15 minuta, što ukazuje da veća relativna učestalost čestica manjeg promjera sa česticama većeg promjera djeluju sinergistički i stvaraju stabilnu sredinu (Slike 22 i 23). Iz mikroskopskih slika (Tablica 6) vidljivo je kako visoki hidrostatski tlak ima veći utjecaj na intervalnu stabilnost dodanog ulja i zbog svog ravnomjernijeg utjecaja na cijeli volumen, pozitivno utječe na stabilnost uzoraka. Visoki hidrostatski tlak ne utječe na manje molekule i kovalentne veze, no unatoč tome, visoki tlak inducira druge promjene u sokovima i sličnim višekomponentnim sustavima djelujući na strukturu stanica, bjelančevina i složenih ugljikohidrata od kojih je građena pulpa. Uslijed puknuća stanične stijenke i vakuole dolazi do dispergiranja manjih čestica i tvorbe stabilnijeg sustava (Augusto, 2018).

Uzorci tretirani tlakom od 300 MPa pokazuju visoku vrijednost ISS (Slika 21). Analizom vrijednosti ISS – a vidi se značajan utjecaj dodatka ulja ($p < 0,05$) volumena 1 mL zbog toga što takvi uzorci postižu stabilnost u vrijednostima do 550 sati, dok uzorci s dodanim volumenom ulja od 0,5 mL postižu vrijednosti do 400 sati (Slika 23). Analizom multimodalne krivulje vidljivo je smanjenje relativne učestalosti čestica manjih od 10 μm u odnosu na referentni uzorak i porast većih čestica u intervalu od 100 – 2000 μm čime se i smanjuje stabilnost uzoraka (Slika 25).

Analizom vrijednosti ISS – a uzoraka tretiranih tlakom od 450 MPa dobivene su najniže vrijednosti ISS – a, sve vrijednosti se kreću u intervalu između 50 – 350 sati (Slika 21). Relativna učestalost svih čestica (Slika 26) prikazuje trend smanjenja u intervalu raspodjele između 0,7 – 10 µm koje najviše doprinose stabilnosti višekomponentnih sustava.

Provedena analiza raspodjele veličine čestica (Slike 24 – 26) i analiza mikroskopskih slika (Tablica 6) vidljivo je smanjenje promjera kapljica ulja djelovanjem visokog hidrostatskog tlaka i njihovog sjedinjenja sa česticama pulpe. Suprotno, u istraživanju Al-Bandak i sur. (2011) utjecaj tlaka od 200 i 650 MPa nije doveo do promjena prosjeka veličine kapljica emulzija što ukazuje da struktura takve emulzije nije podložna utjecaju visokog tlaka. Rezultati istraživanja, provedenog od strane Carballo i sur. (1997) na emulgiranim mesnim proizvodima s malim i velikim udjelom masti, pokazali su kako uzorci tretirani tlakom 300 MPa imaju pad vrijednosti stabilnosti emulzije. Bigikocin i sur. (2011) su promatrali utjecaj visokog hidrostatskog tlaka na stabilnost i reološka svojstva emulzije ulje u vodi. Emulzija je bila pripremljena od suncokretovog ulja, otopine bjelančevina i polisaharida (ksantan guma, guar guma i karuba guma). Sastojci su bili homogenizirani koloidnim mlinom pri brzini od 10000 okretaja u minuti u vremenu trajanja od 5 minuta. Nakon toga uzorci su bili tretirani visokim hidrostatskim tlakom. Dobiveni rezultati pokazali su kako visoki hidrostatski tlak utječe na deformaciju kapljica ulja i smanjivanje njihovog promjera. Obrada visokim hidrostatskim tlakom značajno doprinosi stabilnosti emulzije razmatanjem proteina što posljedično povećava gustoću emulzije.

5 ZAKLJUČCI

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

1. Promjer sonde, amplituda i vrijeme tretiranja značajno pozitivno utječu na apsorbanciju smoothieja tretiranog ultrazvukom. Volumen dodanog sezamovog ulja ima veći utjecaj na apsorbanciju mjerenu neposredno nakon obrade u odnosu na intervalnu apsorbanciju.
2. Povećanje vrijednosti tlaka uz dodano sezamovo ulje utječe na povećanje vrijednosti intervalne apsorbancije smoothieja.
3. Uzorci sa dodanih 1 ml sezamovog ulja i kraćeg vremena obrade ultrazvukom visokog intenziteta (UVI) imaju statistički značajno povećanje stabilnosti uzoraka smoothieja i povećanje relativne učestalosti čestica u intervalu od 0,7 – 100 μm .
4. Visoki hidrostatski tlak ima veći utjecaj na indeks stabilnosti smoothieja (ISS) od ultrazvuka visokog intenziteta i pasterizacije. Dulja vremena obrade smoothieja visokim hidrostatskim tlakom statistički značajno povećavaju vrijednost ISS, dok povišenje vrijednosti tlaka utječe na njegovo smanjenje.
5. Najveća stabilnost uzoraka tretiranih visokim hidrostatskim tlakom (VHT) postiže pri tlaku od 150 MPa gdje dolazi do povećanja relativne učestalosti čestica u intervalu od 0,02 – 10 μm .
6. VHT obradom pri 150_15_1ml postiže se najveća stabilnost (660 h) koju karakterizira interval raspodjele čestica od 0,02 – 10 μm , dok je kod UVI uzorak 60_10_10_1ml pokazao stabilnost od 290 h sa intervalom raspodjele čestica promjera od 100 – 2000 μm .
7. Obje netoplinske tehnologije pokazale su značajan utjecaj na povećanje stabilnosti višekomponentnog sustava smoothieja sa dodanom uljnom fazom u odnosu na konvencionalni postupak toplinske obrade.

5 LITERATURA

Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M.M., Hu, B., Lei, S., Zhang, X., Zeng, X., (2013) Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice. *Ultrason Sonochem*, **20(5)**, 1182-1187.

Abismail, B., Canselier, J.P., Wilhelm, A.M., Delmas, H., Gourdon, C. (1999) Emulsification by ultrasound: drop size distribution and stability. *Ultrason Sonochem*, **6(1-2)**, 75-83.

Al-Bandak, G., Dermesonlougrou, E.K., Taoukis, P.S., Oreopoulou, V. (2011) Antioxidant effect of Majorana syriaca extract in bulk corn oil and o/w emulsion after applying high hydrostatic pressure. *Food Chem*, **125(4)**, 1166-1170.

Allen, T., (2003) Powder sampling and particle size determination, Elsevier, Oxford.

Alzamora, S.M., Guerrero, S.N., Schenk, M., Raffellini, S., López-Malo, A. (2011) Inactivation of microorganisms. U: Ultrasound technologies for food and bioprocessing, (Feng, H., Barbosa-Cánovas, G.V., Weiss, J., ured.), Springer, New York, str. 321 – 343.

Andrés, 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.

Atkins, P.W. (1994) Physical Chemistry, 5. izd., Oxford University Press, Oxford.

Augusto, P.E., Ibarz, A., Cristianini, M. (2012) Effect of high pressure homogenization (HPH) on the rheological properties of a fruit juice serum model. *J Food Eng*, **111(2)**, 474-477.

Augusto, P.E., Tribst, A.A., Cristianini, M. (2018) High hydrostatic pressure and high-pressure homogenization processing of fruit juices. U: *Fruit Juices* (Rajauria, G., Tiwari, B. K., ured.), Academic Press, Dublin, str. 393 – 421.

Baysal, A.H., İçier, F. (2010) Inactivation kinetics of Alicyclobacillus acidoterrestris spores in orange juice by ohmic heating: effects of voltage gradient and temperature on inactivation. *J. Food Prot*, **73(2)**, 299-304.

Benichou, A., Aserin, A., Garti, N. (2004) Double emulsions stabilized with hybrids of natural polymers for entrapment and slow release of active matters. *Advances in Colloid and Interface Science*, **108**, 29-41.

Bhargava, N., Mor, R.S., Kumar, K., Sharanagat, V.S. (2020) Advances in application of ultrasound in food processing: A review. *Ultrason Sonochem*, 105293.

Bi, X., Hemar, Y., Balaban, M.O., Liao, X., (2015) The effect of ultrasound on particle size, color, viscosity and polyphenol oxidase activity of diluted avocado puree. *Ultrason Sonochem*, **27**, 567-575.

Bigikocin, E., Mert, B. and Alpas, H., 2011. Effect of high hydrostatic pressure and high dynamic pressure on stability and rheological properties of model oil-in-water emulsions. *High Press Res*, **31(3)**, 462-474.

Boeing, H., Bechthold, A., Bub, A., Ellinger, S., Haller, D., Kroke, A., Leschik-Bonnet, E., Müller, M.J., Oberritter, H., Schulze, M., Stehle, P. (2012) Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *Eur. J Nutr*, **51(6)**, 637-663.

Bosiljkov, T. (2011) Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na stupanj homogenizacije i fizikalna svojstva sojinog, kravljeg, ovčjeg i kozjeg mlijeka, Doktorski rad, Prehrambeno – biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu.

Campoli, S.S., Rojas, M.L., do Amaral, J.E.P.G., Canniatti-Brazaca, S.G., Augusto, P.E.D., (2018) Ultrasound processing of guava juice: Effect on structure, physical properties and lycopene in vitro accessibility. *Food chem*, **268**, 594-601.

Carballo, J., Fernandez, P., Carrascosa, A.V., Solas, M.T. and Colmenero, F.J. (1997) Characteristics of low-and high-fat beef patties: effect of high hydrostatic pressure. *J. Food Prot*, **60(1)**, 48-53.

Castillejo, N., Martínez-Hernández, G.B., Monaco, K., Gómez, P.A., Aguayo, E., Artés, F., Artés-Hernández, F. (2017) Preservation of bioactive compounds of a green vegetable smoothie using short time–high temperature mild thermal treatment. *Food Sci Technol Int*, **23(1)**, 46-60.

- Chakraborty, S., Kaushik, N., Rao, P.S., Mishra, H.N. (2014) High-pressure inactivation of enzymes: a review on its recent applications on fruit purees and juices. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf*, **13(4)**, 578-596.
- Chen, D., Xi, H., Guo, X., Qin, Z., Pang, X., Hu, X., Liao, X., Wu, J. (2013) Comparative study of quality of cloudy pomegranate juice treated by high hydrostatic pressure and high temperature short time. *Innov Food Sci Emerg Technol*, **19**, 85-94.
- Colmenero, J. C., Fernandez, P., Barreto, G., & Solas, M. T. (1997) High-pressure induced changes in the characteristics of low-fat and high-fat sausages. *J. Sci. Food Agric*, **75**, 61–66.
- Crawford, Y.J., Murano, E.A., Olson, D.G., Shenoy, K. (1996) Use of high hydrostatic pressure and irradiation to eliminate *Clostridium sporogenes* spores in chicken breast. *J. Food Prot.*, **59(7)**, 711-715.
- Cruz, R. M. S., Vieira, M. C., Silva, C. L. M. (2006) Effect of heat and thermosonication treatments on peroxidase inactivation kinetics in watercress (*Nasturtium officinale*). *J Food Eng*, **72(1)**, 8–15.
- Daryaei, H., Balasubramaniam, V.M. (2012) Microbial decontamination of food by high pressure processing. U: Microbial decontamination in the food industry (Demirci, A., Ngadi, M.O., ured.), Woodhead Publishing, Sawston, str. 370-406.
- De las Rivas, B., Ruiz-Capillas, C., Carrascosa, A.V., Curiel, J.A., Jiménez-Colmenero, F., Muñoz, R. (2008) Biogenic amine production by Gram-positive bacteria isolated from Spanish dry-cured “chorizo” sausage treated with high pressure and kept in chilled storage. *Meat Sci.*, **80(2)**, 272-277.
- Doona, C.J., Feeherry, F.E., Ross, E.W. Kustin, K. (2016) Chemical kinetics for the microbial safety of foods treated with high pressure processing or hurdles. *Food Eng. Rev*, **8(3)**, 272-291.
- Duong, T., Balaban, M. (2014) Optimisation of the process parameters of combined high hydrostatic pressure and dense phase carbon dioxide on enzyme inactivation in feijoa (*Acca sellowiana*) puree using response surface methodology. *Innov Food Sci Emerg Technol*, **26**, 3-101.
- 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.

Farkas, D.F. (2016) A short history of research and development efforts leading to the commercialization of high-pressure processing of food. U: High pressure processing of food (Balasubramaniam, V.M., Barbosa – Canovas, G.V., Lelieveld, L.M., ured.), Springer, New York, str. 19-36.

Farkas, D.F., Hoover, D.G. (2000) High pressure processing. *J. Food Sci*, **65**, 47-64.

Farr, D. (1990) High pressure technology in the food industry. *Trends Food Sci Technol*, **1**, 14-16.

Feng, H., Barbosa-Cánovas, G.V., Weiss, J. (2011) Ultrasound technologies for food and bioprocessing, New York: Springer, New York, str. 559.

Fernandez, M.V., Denoya, G.I., Agüero, M.V., Jagus, R.J. i Vaudagna, S.R. (2018) Optimization of high pressure processing parameters to preserve quality attributes of a mixed fruit and vegetable smoothie. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **47**, 170-179.

Friberg, S., Larsson, K., Sjoblom J. (2004). Food Emulsions, 4. izd., Marcel Dekker, New York.

Gaikwad, S.G. and Pandit, A.B. (2008) Ultrasound emulsification: effect of ultrasonic and physicochemical properties on dispersed phase volume and droplet size. *Ultrason Sonochem*, **15(4)**, 554-563.

Gallego-Juárez, J.A., Rodriguez, G., Acosta, V., Riera, E. (2010) Power ultrasonic transducers with extensive radiators for industrial processing. *Ultrason Sonochem*, **17(6)**, 953-964.

Gonzalez, M.E., Barrett, D.M. (2010) Thermal, high pressure, and electric field processing effects on plant cell membrane integrity and relevance to fruit and vegetable quality. *J. Food Sci*, **75(7)**, 121-130.

Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J.B., Christensen, A.B. and Givskov, M. (2002) Food spoilage—interactions between food spoilage bacteria. *Int. J. Food Microbiol*, **78(1-2)**, 79-97.

Hielscher UP100H (2020) Hielscher Ultrasound Technology
<https://www.hielscher.com/100h_p.htm> Pristupljeno 4. prosinca 2020.

Huang, H.-W., Lung, H.-M., Yang, B.B., Wang, C.-Y. (2014) Responses of microorganisms to high hydrostatic pressure processing. *Food Control*, **40 (1)**, 250 – 259.

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 Bioproc Tech*, **8(12)**, 2470-2482.

Jacobo-Velázquez, D.A., Cuéllar-Villarreal, M. R., Welti-Chanes, J., CisnerosZeballos, L., Ramos-Parra, P.A., Hernández-Brenes C. (2017) Nonthermal processing technologies as elicitors to induce the biosynthesis and accumulation of nutraceuticals in plant foods. *Trends Food Sci Technol*, **60**, 80-87.

Jayachandran, L.E., Chakraborty, S., Rao, P.S. (2015) Effect of high pressure processing on physicochemical properties and bioactive compounds in litchi based mixed fruit beverage. *Innov Food Sci Emerg Technol*, **28**, 1-9.

Kentish, S., Ashokkumar, M. (2010) *The Physical and Chemical Effects of Ultrasound*. U: *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing* (Feng. H., Barbosa-Canovas, G., Weiss, J., ured.), Springer, New York, str. 1–12.

Knorr, D., Froehling, A., Jaeger, H., Reineke, K., Schlueter, O., Schoessler, K. (2011) Emerging technologies in food processing. *Annu Rev Food Sci Technol*, **2**, 203-235.

Linton, M., Patterson, M.F. (2000) High pressure processing of foods for microbiological safety and quality. *Acta Microbiol Immunol Hung*, **47(2-3)**, 175-182.

Manikandan, S. (2011) Measures of central tendency: Median and mode. *J Pharmacol Pharmacother*, **2(3)**, 214.

Mason, J., Chemat, F., Vinatoru, M. (2011) The extraction of natural products using ultrasound or microwaves. *Curr Org Chem*, **15(2)**, 237-247.

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.

McClements, D.J. (1995) Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends Food Sci Technol*, **6(9)**, 293-299.

McClements, D.J., (2015) Food emulsions: principles, practices, and techniques, CRC press, Boca Raton, str. 1–51.

Miller, F.A., Silva, C.L. (2012) Thermal Treatment Effects in Fruit Juices. U: Advances in fruit processing technologies (Rodrigues, S., Narciso Fernandes, F.A., ured.), CRC Press, Boca Raton, str. 363.

Muthukumar, S., Kentish, S.E., Stevens, G.W. and Ashokkumar, M. (2006) Application of ultrasound in membrane separation processes: a review. *Rev. Chem. Eng*, **22(3)**, 155-194.

O'Sullivan, J., Murray, B., Flynn, C., Norton, I. (2016) The effect of ultrasound treatment on the structural, physical and emulsifying properties of animal and vegetable proteins. *Food Hydrocoll*, **53**, 141-154.

O'Reilly, C.E., Kelly, A.L., Murphy, P.M., Beresford, T.P. (2001) High pressure treatment: applications in cheese manufacture and ripening. *Trends Food Sci Technol*, **12(2)**, 51-59.

Patist, A. and Bates, D. (2008) Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innov Food Sci Emerg Technol*, **9(2)**, 147-154.

Pottier, L., Villamonte, G., de Lamballerie, M., (2017) Applications of high pressure for healthier foods. *Curr. Opin. Food Sci*, **16**, 21-27.

Puig, A., Olmos, P., Quevedo, J.M., Guamis, B., Mínguez, S. (2008) Microbiological and sensory effects of musts treated by high-pressure homogenization. *Food Sci Technol Int*, **14(5)**, 5-11.

Rastogi, N.K., Raghavarao, K.S.M.S., Balasubramaniam, V.M., Niranjana, K., Knorr, D. (2007) Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. *Crit Rev Food Sci Nutr*, **47(1)**, 69-112.

Rawson, A., Patras, A., Tiwari, B.K., Noci, F., Koutchma, T., Brunton, N. (2011) Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. *Food Res. Int*, **44(7)**, 1875-1887.

Rickman, J.C., Barrett, D.M., Bruhn, C.M. (2007) Nutritional comparison of fresh, frozen and canned fruits and vegetables. Part 1. Vitamins C and B and phenolic compounds. *J. Sci. Food Agric.*, **87**(6), 930-944.

Rojas, M.L., Leite, T.S., Cristianini, M., Alvim, I.D., Augusto, P.E. (2016) Peach juice processed by the ultrasound technology: Changes in its microstructure improve its physical properties and stability. *Food Res. Int.*, **82**, 22-33.

Salazar-González, C., San Martín-González, M.F., Vergara-Balderas, F.T., López-Malo, A., Sosa-Morales, M.E. (2014) Physical-chemical and microbiological stability during refrigerated storage of microwave-pasteurized guava nectar. *Focusing on Modern Food Industry*, **3**, 43-51.

Serrano Sandoval, S.N. (2017) Effect of ultrasound treatment on bioactive compounds composition of soybean and red prickly pear used to develop a functional beverage, Diplomski rad, School of Engineering and Sciences, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey.

Simonin, H., Durantou, F., De Lamballerie, M. (2012) New insights into the high-pressure processing of meat and meat products. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, **11**(3), 285-306.

Soper, A.K. (2017) The Structure of Water and Aqueous Systems. *Exp. Methods Phys. Sci.*, **(49)**, 135-211.

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

Svarovsky, L. (2001) Solid-liquid separation, 4. izd., Butterworth-Heinemann, Oxford, str. 30-65.

Szczawinski, J., Szczawinska, M., Stanczak, B., Fonberg-Broczek, M., Arabas, J., Szczepek, J., (1997) Effect of high pressure on survival of *Listeria monocytogenes* in ripened, sliced cheeses at ambient temperature. *High Press Res.*, 295-298.

Tadros T. F. (2009) Emulsion Science and Technology, Wiley, New York .

Wang, J., Wang, J., Vanga, S.K., Raghavan, V. (2020) High-intensity ultrasound processing of kiwifruit juice: Effects on the microstructure, pectin, carbohydrates and rheological properties. *Food chem.*, **313**, 126121.

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

Yordanov, D.G., Angelova, G.V., 2010. High pressure processing for foods preserving. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.*, **24(3)**, 1940-1945.

Zupanc, M., Pandur, Ž., Perdih, T.S., Stopar, D., Petkovšek, M. i Dular, M. (2019) Effects of cavitation on different microorganisms: The current understanding of the mechanisms taking place behind the phenomenon. A review and proposals for further research. *Ultrason Sonochem.*, **57**, 47-165.

IZJAVA O IZVORNOSTI

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

Svan Knechtel

Ime i prezime studenta