

# MOGUĆNOSTI PRIMJENE VISOKOG HIDROSTATSKOG TLAKA (HPP) PRI PROCESIRANJU SIROVINA VEGETABILNOG PODRIJETLA

---

Šoprun, Tin

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Karlovac University of Applied Sciences / Veleučilište u Karlovcu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:128:235770>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-22**



**VELEUČILIŠTE U KARLOVCU**  
Karlovac University of Applied Sciences

Repository / Repozitorij:

[Repository of Karlovac University of Applied Sciences - Institutional Repository](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

VELEUČILIŠTE U KARLOVCU  
STRUČNI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA  
MLJEKARSTVO

Tin Šoprun

**MOGUĆNOSTI PRIMJENE VISOKOG HIDROSTATSKOG  
TLAKA PRI PROCESIRANJU SIROVINA VEGETABILNOG  
PODRIJETLA**

ZAVRŠNI RAD

KARLOVAC, siječanj, 2022.

**VELEUČILIŠTE U KARLOVCU**  
**STRUČNI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA**  
**MLJEKARSTVO**

Tin Šoprun

**Mogućnosti primjene visokog hidrostatskog tlaka pri procesiranju  
sirovina vegetabilnog podrijetla**

ZAVRŠNI RAD

Mentor: dr.sc. Sandra Zavadlav, prof. v.š.

Broj indeksa studenta: 0314617005

KARLOVAC, siječanj, 2022.

## **Predgovor**

Ovaj završni rad izrađen je pod mentorstvom dr.sc. Sandre Zavadlav, prof. v.š. u sklopu stručnog preddiplomskog studija Prehrambene tehnologije, Veleučilišta u Karlovcu. Zahvaljujem se svojoj mentorici na strpljenju, pomoći i vodstvu pri izradi ovog završnog rada.

Također, zahvaljujem se svojoj obitelji na podršci te kolegama i profesorima na suradnji i stečenim znanjima.

## IZJAVA O AUTENTIČNOSTI ZAVRŠNOG RADA

Ja, ovime izjavljujem da je moj završni rad pod naslovom „**Mogućnosti primjene visokog hidrostatskog tlaka pri procesiranju sirovina vegetabilnog podrijetla**“ rezultat vlastitog rada i istraživanja literature te se oslanja na izvore i radove navedene u bilješkama i popisu literature. Ni jedan dio ovoga rada nije napisan na nedopušten način, odnosno nije prepisan iz necitiranih radova i ne krši autorska prava. Sadržaj ovoga rada u potpunosti odgovara sadržaju obranjenoga i nakon obrane uređenoga rada.

Karlovac, siječanj 2022.

Ime i prezime studenta

Tin Šoprun

---

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Veleučilište u Karlovcu  
Odjel prehrambene tehnologije  
Stručni studij prehrambena tehnologija

Završni rad

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

### MOGUĆNOSTI PRIMJENE VISOKOG HIDROSTATSKOG TLAKA PRI PROCESIRANJU SIROVINA VEGETABILNOG PODRIJETLA

*Tin Šoprun*

Rad je izrađen na Veleučilištu u Karlovcu 2022. godine.

Mentor: dr.sc. Sandra Zavadlav, prof. v. š.

#### Sažetak:

Rezultati znanstvenih istraživanja upućuju na činjenicu da se primjenom visokog hidrostatskog tlaka i nekih modernih postupaka u preradi sirovina vegetabilnog podrijetla u prehrambenoj industriji može znatno uštedjeti energija i trajanje procesa proizvodnje, mogu se primijeniti blaži uvjeti termičke obrade te dobiti proizvodi boljih organoleptičkih značajki i veće nutritivne vrijednosti. Kako neke od modernih i suvremenih tehnika djeluju i na molekularnoj razini mijenjajući konformaciju, strukturu ili naboj molekula organskih ali i anorganskih materijala dolazi do promjena i pojedinih funkcionalnih svojstava tretiranih sirovina i proizvoda koji nastaje iz tretiranih sirovina vegetabilnog podrijetla.

**Ključne riječi:** visoki hidrostatski tlak, voće, konzerviranje, rok trajanja, voćni sok

**Broj stranica:** 31

**Broj slika:** 6

**Broj tablica:** 3

**Broj literaturnih navoda:** 54

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Datum obrane:** 21.1.2022.

#### Stručno povjerenstvo za obranu:

1. *dr.sc. Marijana Blažić, prof.v.š*
2. *dr. sc. Goran Šarić, v. predavač*
3. *dr.sc. Sandra Zavadlav, prof.v.š (mentor)*
4. *dr.sc. Bojan Matijević, prof.v.š (zamjena)*

Rad je pohranjen u knjižnici Veleučilišta u Karlovcu, I. Meštrovića 10, 4700 Karlovac, Hrvatska.

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

---

**Karlovac University of Applied Sciences  
Department of Food Technology  
Professional Study of Food Technology**

**Final paper**

**Scientific Area: Biotechnical Sciences  
Scientific Field: Food Technology**

### **POSSIBILITIES OF APPLYING HIGH HYDROSTATIC PRESSURE IN THE PROCESSING OF RAW MATERIALS OF VEGETABLE ORIGIN**

*Tin Šoprun*

**Final paper performed at Karlovac University of Applied Sciences, 2022.  
Supervisor: Sandra Zavadlav, PhD**

#### **Abstract**

The results of scientific research point to the fact that the application of high hydrostatic pressure and some modern procedures in the processing of raw materials of vegetable origin in the food industry can significantly save energy and duration of the production process, can apply milder heat treatment conditions. As some of the modern and contemporary techniques work at the molecular level by changing the conformation, structure or charge of molecules of organic and inorganic materials, there are changes in certain functional properties of treated raw materials and products derived from treated raw materials of vegetable origin.

**Key words:** high hydrostatic pressure, fruit, canning, shelf life, fruit juice

**Number of pages:** 31  
**Number of figures:** 6  
**Number of tables:** 3  
**Number of references:** 54  
**Original in:** croatian

**Date of the final paper defense:** 21.1.2022.

#### **Reviewers:**

1. *dr.sc. Marijana Blažić, collage prof.*
2. *dr. sc. Goran Šarić, sen. lecturer*
3. *dr.sc. Sandra Zavadlav, collage prof. (supervisor)*
4. *dr.sc. Bojan Matijević, collage prof. (substitute)*

**Final paper deposited in: Library of Karlovac University of Applied Sciences, I. Meštrovića 10, Karlovac, Croatia.**

## Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. Obrada prehrambenih sirovina visokim hidrostatskim tlakom .....	2
2.2. Primjena procesiranja pod povišenim hidrostatskim tlakom - inaktivacija enzima.....	3
2.3. Utjecaj povišenog hidrostatskog tlaka na aktivnost enzima u voću i povrću.....	4
2.3.1. Aktivnost enzima kod citrusa.....	5
2.3.2. Aktivnost enzima kod jagoda i ostalog voća .....	6
2.3.3. Aktivnost enzima kod povrća .....	7
2.4. Utjecaj povišenog hidrostatskog tlaka na boju i pigmente voća .....	7
2.4.1. Utjecaj povišenog hidrostatskog tlaka na boju .....	10
2.4.2. Utjecaj povišenog hidrostatskog tlaka na boju voća.....	11
2.4.3. Utjecaj povišenog hidrostatskog tlaka na boju povrća .....	12
2.5. Utjecaj povišenog hidrostatskog tlaka na mikroorganizme .....	15
2.5.1. Utjecaj povišenog hidrostatskog tlaka na kvasce i plijesan .....	16
2.5.2. Utjecaj povišenog hidrostatskog tlaka na bakterije .....	16
2.6. Utjecaj povišenog hidrostatskog tlaka na vitamine u voću i povrću.....	18
2.7. Utjecaj povišenog hidrostatskog tlaka na količinu antioksidansa u voću i povrću.....	19
2.8. Utjecaj povišenog hidrostatskog tlaka na fenolni sadržaj .....	20
2.9. Utjecaj povišenog hidrostatskog tlaka na količinu antocijanina .....	21
3. RASPRAVA .....	23
4. ZAKLJUČCI.....	25
5. LITERATURA .....	26



## 1. UVOD

Danas postoji značajan interes u razumijevanju utjecaja visokog hidrostatskog tlaka na hranu i njene sastojke. Svrha tretiranja visokim tlakom je produljenje roka trajanja namirnice i minimalni rizik od stvaranja patogenih mikroorganizama (Myers, 2012).

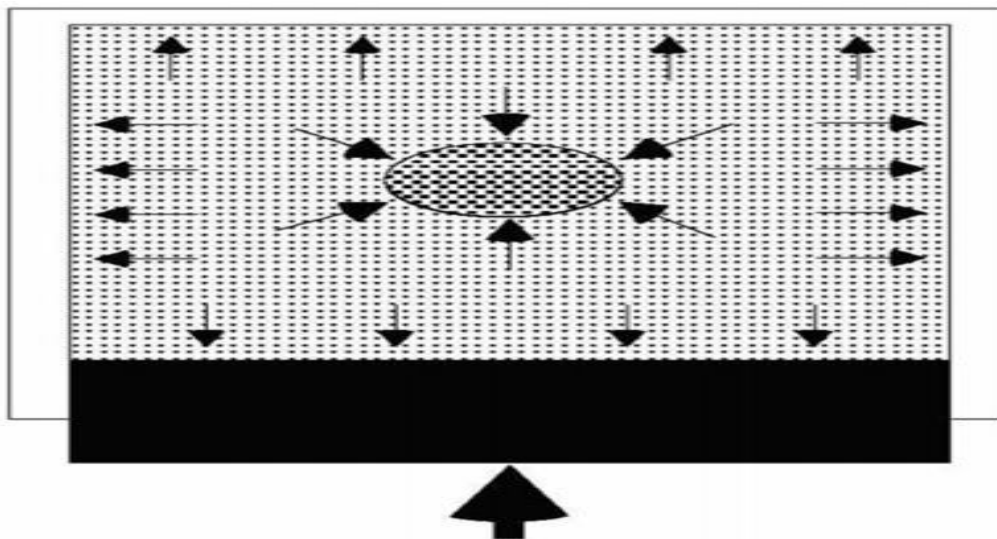
Prva istraživanja su objavljena 1970-ih godina zbog tehničkih poteškoća i troškova povezanih s jedinicama za obradu s visokim hidrostatskim tlakom, a to je metoda koja podrazumijeva podvrgavanje tekuće ili čvrste namirnice tlakovima između 100 MPa i 800 MPa pa i do 1200 MPa i stoga je moguće reducirati ili potpuno ukloniti mikroorganizme uz minimalan utjecaj na organoleptička i nutritivna svojstva prehrambenog proizvoda koji se obrađuje. Temperatura obrade može se kretati od ispod 0°C do iznad 100°C, a vrijeme izloženosti djelovanju tlaka može varirati od nekoliko sekundi do preko 20 minuta. Namirnica koja se tretira visokim hidrostatskim tlakom se uranja u spremnik u koji se upumpava tekući medij putem kojeg se ostvaruje hidrostatsko tlačjenje od 1 do nekoliko minuta. Tijekom postupka prerade tlak se ujednačeno prenosi kroz cijeli volumen proizvoda zbog čega vrijeme obrade ne ovisi o obliku i dimenzijama proizvoda. Rad kompresije tijekom obrade odražava se povišenjem temperature adijabatskim zagrijavanjem za oko 3°C za svakih 100 MPa (Lelas, 2006). Temperatura proizvoda se snizuje na početnu temperaturu nakon dekompresije i na taj način namirnica je kratko vrijeme izložena visokim temperaturama koje ne utječu značajno na njena svojstva.

Obrada visokim hidrostatskim tlakom ne utječe na razaranje kovalentnih veza, ali može utjecati na ionske, vodikove i hidrofobne veze. Otpornost mikroorganizama na primijenjene visoke tlakove proučavana je na mesu, mlijeku, voću, povrću i voćnim sokovima. Kvaliteta mikrobiološke obrade ponajprije ovisi o primijenjenoj temperaturi, tlaku, trajanju obrade, vrsti mikroorganizama i uvjetima okoliša u kojima se razmnožava promatrani mikroorganizam (Bosiljkov i sur., 2010).

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. OBRADA PREHRAMBENIH SIROVINA VISOKIM HIDROSTATSKIM TLAKOM

Sistem obrade povišenim tlakom sastoji se od visokotlačnog spremnika i sustava za stvaranje tlaka, sustava za kontrolu temperature te sustava za rukovanje materijalom. Visokotlačni spremnik je najvažnija komponenta opreme za procesiranja pod visokim tlakom. Prilikom tlačenja proizvoda, za prijenos tlaka koriste se tekućine u spremniku za jednoličan i trenutni prijenos tlaka na proizvod. Najčešće korištene tekućine su vodene otopine glikola, silikonsko ulje, otopine natrijevog benzoata, otopine etanola, inertni plinovi i ricinusovo ulje. Prehrambeni proizvodi trebaju biti zapakirani u fleksibilno pakiranje. Paketi se ubacuju u visokotlačnu komoru. Spremnik je zatvoren i napunjen sredstvom (tekućinom) za prijenos tlaka. Visoki tlak se obično postiže s vodom kao hidrauličkom tekućinom radi lakšeg rada i kompatibilnosti s prehrambenim materijalima. Osnovna i temeljna primjena visokog tlaka kod hrane je prvenstveno kompresija proizvoda vodom koja okružuje tretirani prehrambeni proizvod. Budući da djelovanjem visokog tlaka na tekućine dolazi do male promjene volumena, ne prijete opasnost u radu kao kod procesa u kojima se koriste stlačeni plinovi. Kada se postigne željeni tlak, pumpa ili klip se zaustave, ventili se zatvore te se postignuti tlak može održati bez daljnjeg unosa energije (Singh i sur., 2019).



**Slika 1** Princip izostatičkog procesiranja (Singh i sur., 2019).

## **2.2. PRIMJENA PROCESIRANJA POD POVIŠENIM HIDROSTATSKIM TLAKOM - INAKTIVACIJA ENZIMA**

Većina prirodnih enzima ostaje aktivna nakon berbe što često može uzrokovati drastične promjene u kvaliteti kao što je boja, okus, tekstura i nutritivnoj vrijednosti, zbog čega su enzimatske reakcije glavni problem kod primjene procesiranja pod povišenim hidrostatskim tlakom voća i povrća. Tlak koji je potrebno koristiti uvelike ovisi o vrsti enzima, neki enzimi mogu biti inaktivirani na sobnoj temperaturi s relativno niskim tlakom dok određeni enzimi mogu izdržati tlak do 1000 MPa. Određeni enzimi su vrlo stabilni pod visokim tlakom. U određenim slučajevima moguća je potreba za kombinacijom povišenog tlaka i temperature kako bi se enzimi inaktivirali.

Do inaktivacije enzima dolazi kada su poremećene ili pocijepane specifične veze koje tvore sekundarnu strukturu ili tercijarnu strukturu tj. vodikove veze kod amida (Terefe i Buckow, 2017). Denaturacija proteina koja se inducira toplinom, kemikalijama ili povišenim tlakom može se značajno razlikovati. Primjerice, temperatura ili kemikalije mogu ireverzibilno denaturirati protein zbog pucanja kovalentnih veza, dok dijelovi molekula nakon djelovanja povišenim tlakom mogu ostati nepromijenjeni.

Denaturacija proteina kojom dolazi do inaktivacije enzima djelovanjem povišenog tlaka inicira se forsiranjem tj. tlačenjem vode u unutrašnjost matriksa. Kao rezultat penetracije vode u strukturu proteina, velika je mogućnost da će povišeni tlak izazvati strukturne prijelaze koji rezultiraju rastvaranjem proteina. (Saad-Nehme i sur., 2001).

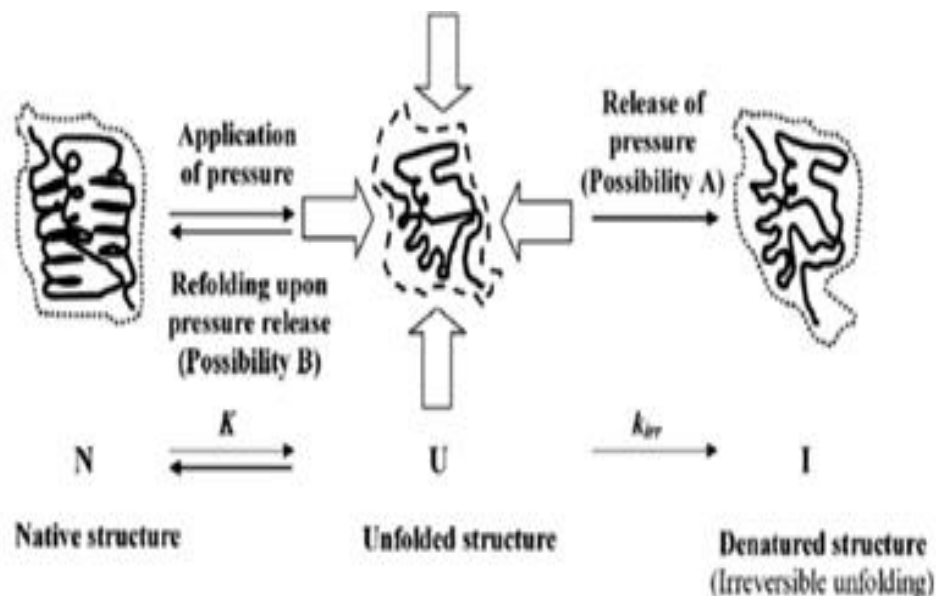
### 2.3. UTJECAJ POVIŠENOG HIDROSTATSKOG TLAKA NA AKTIVNOST ENZIMA U VOĆU I POVRĆU

Istraživanja vezana za utjecaj povišenog hidrostatskog tlaka - HPP-a - na enzimatske sisteme u proizvodima od jabuke i kruške fokusiraju se na inaktivaciju polifenol oksidaze – PPO.

PPO – polifenol oksidaza je enzim koji katalizira oksidaciju fenolnih spojeva što rezultira posmeđivanjem proizvoda. Do značajne inaktivacije PPO-a u soku jabuke ili kruške dolazi nakon obrada pod tlakom između 600 MPa - 800 MPa kroz nekoliko minuta na sobnoj temperaturi (Buckow i sur., 2009). Procesiranje pod povišenim tlakom od 450 MPa inaktiviralo je PPO u jabučnom soku za 40% pri sobnoj temperaturi, 80% pri 40°C i 92% pri 50 °C (Bayindirli i sur., 2006). Navedeno procesiranje dovoljno je za sprječavanje procesa u kojem jabuka poprima smeđu boju tijekom skladištenja na 4°C na 1 dan. Iako se procesiranje jabučnog soka pri navedenim uvjetima pokazalo uspješno u inaktivaciji enzima, procesiranjem komada jabuke pod tlakom od 600 MPa na sobnoj temperaturi nije spriječeno posmeđivanje proizvoda, proizvod je bio skladišten u istim uvjetima kao jabučni sok. (Perera i sur., 2010). Premda se enzimi mogu trenutno inaktivirati, postoji mogućnost ponovne aktivacije enzima nakon procesiranja koje nije bilo adekvatno za određeni proizvod.

Primjerice, u nekolicini istraživanja zabilježen je porast u aktivnosti PPO- polifenol oksidaze kod svježe cijedenog jabučnog soka procesiranog pri temperaturama od 45 °C-50 °C ili pod tlakom od 200 MPa -500 MPa na sobnoj temperaturi (Anese 1995.; Bayindirli , 2006.; Yemenicioglu 1997). Tlačenjem svježe cijedenog jabučnog soka s 500 MPa kroz nekoliko sekundi, nakon čega se naglo otpušta tlak te se vrši hlađenje rezultira porastom aktivnosti PPO- polifenol oksidaze do 50% (Buckow i sur., 2009).

Budući da se visoko tlačenje vrši samo na kratko vrijeme velika je vjerojatnost da dolazi do otpuštanja enzima koji su vezani u membrani te aktivacije latentne forme PPO- polifenol oksidaze (Vamos-Vigyazo, 1981). Na Slici 2 prikazan je model utjecaja procesiranja pod povišenim tlakom na strukturu enzima.



**Slika 2** Model utjecaja procesiranja pod povišenim tlakom na promjenu strukture enzima (Chakraborty, 2014).

### 2.3.1. AKTIVNOST ENZIMA KOD CITRUSA

U većini slučajeva sokovi od citrusa su stabilizirani termičkom pasterizacijom kako bi se inaktivirali enzimi te mikroorganizmi koji su prisutni u proizvodu. Uspješnost inaktivacije pektin metil esteraze (PME) koristi se za određivanje intenziteta komercijalne pasterizacije soka od naranče (Polydera i sur., 2005).

Kako bi se inaktivirali termorezistentni izoenzimi pektin metil esteraze, u komercijalnoj proizvodnji soka od naranče je uobičajena obrada zagrijavanjem na temperature između 90 °C - 99 °C u trajanju od 15 sek. – 30 sek. (Sánchez-Moreno i sur., 2005.; Cortés i sur., 2006).

Navedeni proces ima negativan utjecaj na senzorska svojstva i nutritivne vrijednosti soka, stoga bi se trebalo okrenuti drugim, modernijim te manje invazivnim metodama.

HPP je metoda kojom se u velikom udjelu može inaktivirati pektin metil esteraza korištenjem tlaka od 500 MPa - 600 MPa kroz nekoliko minuta. Točnije, tlačenjem soka od naranče pod tlakom od 600 MPa u trajanju od 1 min na 15°C dolazi do inaktivacije pektin metil esteraze od 90% (Vervoort i sur., 2011).

### 2.3.2. AKTIVNOST ENZIMA KOD JAGODA I OSTALOG VOĆA

Bobičasto voće okarakterizirano je velikom količinom bioaktivnih fitokemikalija koje uključuju nekolicinu flavonoida.

Flavonoidi su ne dijetalni spojevi s antioksidativnim te protuupalnim svojstvima. Također bobičasto voće puno je hidrolizabilnih tanina te fenolnih kiselina koji su zaslužni za karakterističan okus, miris i boju određenog voća (Tomas-Barberan i Espin 2001). Većina HPP istraživanja fokusira se na enzime vezane za stabilnost fenolnih fitokemikalija kao što su PPO- polifenol oksidaze, POD- peroksidaze i  $\beta$ -glucosidase.

Iz neutvrđenih razloga, većina istraživanja temelji se na proizvodima od jagoda te je najveći broj publikacija upravo opisao postupak HPP kod proizvoda od jagode. Navedeni enzimi poprilično su otporni na inaktivaciju povišenim tlakom pa je u većini slučajeva potrebno je primijeniti tlak od 800 MPa pri povišenoj temperaturi od 90°C.

Postoje iznimke u kojima je zabilježena potpuna inaktivacija enzima PPO – polifenol oksidaze obradom pod tlakom od 400 MPa -800 MPa (Garcia-Palazon i sur., 2004).

Interes za korištenjem HPP-a kao metode za konzerviranje raznih voćnih proizvoda neprestano raste i sve se više istražuje. Glavni enzimi koji su uzročnici posmeđivanja u većini voćnih proizvoda su upravo PPO- polifenol oksidaza, zatim POD te PME - pektin metil esteraza.

Spomenuti enzimi su poprilično otporni na inaktivaciju povišenim tlakom, posebice pri sobnim temperaturama (Terefe i Buckow, 2017).

### **2.3.3. AKTIVNOST ENZIMA KOD POVRĆA**

Najviše istraživano povrće koje je bilo podvrgnuto tretmanu sa visokim tlakom odnosno obrađeno HPP metodom su rajčica i mrkva te njihovi enzimi pektin metil esteraza (pectinmethylesterase PME) i lipoksigenaza (lipoxygenase LOX).

Navedeni enzimi imaju značajnu ulogu u strukturi i razvoju okusa kod proizvoda, a također su prisutni i u drugom manje istraživanom povrću.

Pektin metil esteraza - PME u povrću poprilično je rezistentan na inaktivaciju povišenim tlakom. S druge strane, enzim poligalakturonaza koji je zaslužan za dozrijevanje rajčice poprilično je podložan inaktivaciji u slučaju procesiranja pod povišenim tlakom. Do inaktivacije dolazi procesiranjem pod tlakom od 600 MPa na 25°C.

Lipoksigenaza - LOX iz različitih povrtnih proizvoda, uključujući rajčicu, mrkvu te zeleni grah relativno je osjetljiv na procesiranje pod povišenim tlakom. Komercijalnim procesiranjem pod uvjetima od 500 MPa – 600 MPa u vremenu od 1 min -5 min dolazi do inaktivacije tog enzima (Kim i sur., 2001).

Iz navedenog, vidljivo je da većina enzima prisutnih u biljnim proizvodima ima visoku otpornost na inaktivaciju povišenim tlakom, što u dosta slučajeva rezultira samo djelomičnom inaktivacijom enzima u komercijalnim HPP uvjetima. U globalu, enzimi su puno rezistentniji na navedeni način inaktivacije od vegetativnih mikroorganizama, što predstavlja izazov u provođenju HPP-a za stabilizaciju proizvoda od voća i povrća (Buckow, 2017).

### **2.4. UTJECAJ POVIŠENOG HIDROSTATSKOG TLAKA NA BOJU I PIGMENTE VOĆA**

Boja je bitno svojstvo kvalitete svakog prehrambenog proizvoda jer utječe na sveukupni dojam o proizvodu. Dobra odnosno specifična boja kod voća i povrća indikator je svježine. Bilo koja promjena u boji je nepoželjna potrošačima stoga se teži održavanju iste, autentične boje. Prema gledištu potrošača okus i boja su usko povezane stavke, iako to zapravo nije točno. Na boju može utjecati nekoliko faktora kao što su: rukovanje proizvodom, transport, procesiranje, skladištenje,

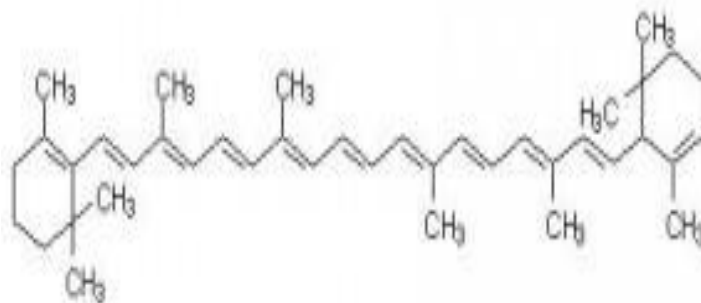
pakiranje, itd. Pokazalo se da na boju procesiranog voća i povrća kao što su kečap i konzervirani ananas značajno utječe temperatura kod procesiranja, vrijeme te pH odnosno kiselost.

Boju kod većine zelenog voća i povrća daje pigment klorofil. Pigmenti klorofila izloženi su velikoj količini istraživanja zbog njihove goleme važnosti u biljnoj fiziologiji. Klorofil a i b su derivati dihidroporfirina s centralno lociranim atomom u omjeru od 3:1 (Francis, 1985).

Strukturno, jedina razlika između klorofila a i b je ta što C-3 atom klorofila a sadrži metilnu grupu dok se na klorofilu b na istom mjestu nalazi formilna grupa. Oba pigmenta sadrže izociklični prsten te razlikuju se prema obojenju te termičkoj stabilnosti.

Najčešća promjena javlja se kod procesiranja zelenog povrća, tijekom čega dolazi do prelaska klorofila u feofitine, čime se boja mijenja iz svjetlo zelene u maslinasto-smeđu boju koja je nepoželjna za kupca (Schwartz, i Von-Elbe, 1983). Boja mnogih vrsta voća i povrća varira od žute do narančaste ili crveno-narančaste. Pigmenti koji su zaslužni za specifičnu boju su karotenoidi. Boja voća ili povrća nakon tretmana koja je jednaka i približnog intenziteta kao kod sirovine je najprihvatljivija za konzumente. Karotenoidi se mogu podijeliti u dvije strukturne grupe: ugljikovodični karotenoidi i oksigenirani ksantofili (Ahmed i Ramaswamy, 2006).

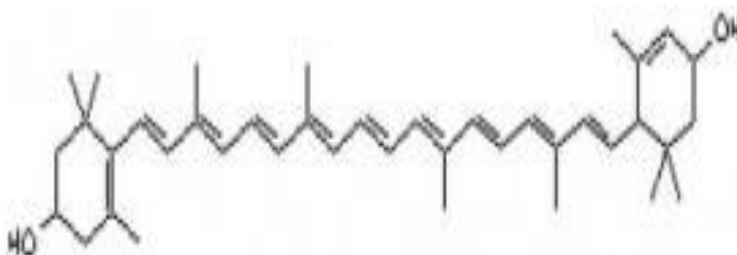
Primjeri za karotenoide su  $\beta$  karoten, najčešći karotenoid, koji je međuprodukt u sintezi vitamina A (retinola), a može se izolirati iz mrkve.  $\beta$  karoten je jaki antioksidans, jača obrambeni sistem organizma i preporuka ja konzumirati namirnice bogate spomenutim spojem.



**Slika 3** Struktura  $\beta$  karotena (Ahmed i Ramaswamy, 2006).



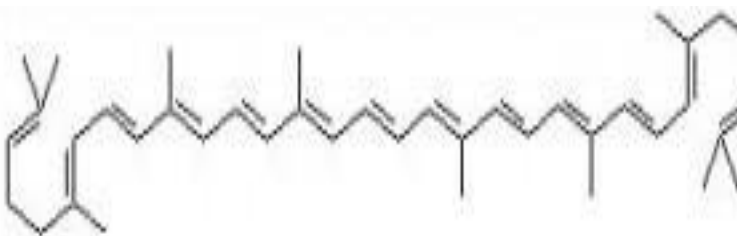
Lutein je hidroksi – derivat  $\beta$  - karotena i prehrana sa mnogo luteina (zeleno lisnato povrće, špinat, brokula), povoljno djeluje na krvožilni sistem i štiti od malignih oboljenja (Ahmed i Ramaswamy, 2006).



**Slika 4** Struktura luteina (Ahmed i Ramaswamy, 2006).

Likopen je biljni pigment koji voću i povrću daje crvenu boju. Najvažniji izvor likopena je rajčica. S obzirom da je likopen lipofilan, veći postotak likopena nalazi se u termički prerađenoj rajčici s uljem (kečap, sos od rajčice) nego u svježim plodovima.

Ostali izvori likopena su lubenica, ružičasti grejpfrut, marelice i dr.



**Slika 5** Struktura likopena (Ahmed i Ramaswamy, 2006)

Mjerenje boje tj. pigmenta uglavnom se vizualno ocjenjuje i uvelike varira. Instrumentalno mjerenje bilježi fizičke podražaje u smislu načina na koji oko vidi boju. Mjerenje se može provesti pomoću spektrofotometrije, tristimulusne kolorimetrije i vizualne kololorimetrije.

Instrumentalna mjerenja provode se sa standardnim ili različitim rasporedom standardnog izvora, i foto-detektora (Ahmed i Ramaswamy, 2006).

### **2.4.1. UTJECAJ POVIŠENOG HIDROSTATSKOG TLAKA NA BOJU**

Utjecaj visokog tlaka na boju/pigment voća i povrća tijekom procesiranja (HPP) komercijalno se koristi na širok spektar voća i povrća.

Povišen hidrostatski tlak se primjenjuje i kod proizvodnje odnosno konzerviranja sokova, džemova, voćnih umaka, želea i smoothiej-a (Leadley i sur, 2003).

U literaturi je zabilježen je učinak visokog tlaka na promjene boje i pigmenata u raznim vrstama voća i povrća. Međutim, dostupno je malo informacija o pigmentima ili boji u ovisnosti o tlaku ili vremenu tretmana. Budući da se HPP-om može promijeniti boja dijamanta, naravno da se očekuju značajne promjena kod prehrambenih proizvoda obrađene visokim hidrostatikom tlakom (Leadley i sur, 2003). Većina provedenih istraživanja bila su dio većih istraživanja koja su provedena u svrhu procijene kvalitete voća obrađenih tlakom te pirea ili soka od povrća.

Utvrđeno je da visokotlačna obrada manje utječe na spojeve u hrani niske molekularne mase, poput pigmenata, za razliku od toplinske obrade koja ima veći utjecaj (Tauscher, 1995).

## 2.4.2. UTJECAJ POVIŠENOG HIDROSTATSKOG TLAKA NA BOJU VOĆA

**Tablica 1** Utjecaj obrade povišenim tlakom na boju i pigmente odabranih voćnih proizvoda (Ahmed i Ramaswamy, 2006).

Proizvod	Boja i pigment	Tlak, temperatura i vrijeme	Glavna opažanja
<b>Pire od banane</b>	Boja	500 MPa – 700 MPa, 21°C, 10 min	Očuvana je inicijalna boja pirea od banane, značajno usporen proces smeđenja.
<b>Sok od naranče, mrkve i limuna</b>	Boja	1400 MPa	Malo povećanje karotenoida u mješavini sokova.
<b>Svježa pulpa manga</b>	Boja	100 MPa – 400 MPa, 20°C 15-30 min	Kvaliteta proizvoda ostala je gotovo ista rezultirajući minimalnim utjecajem na pigment. Povećanjem tlaka dolazi do promjene boje dok vrijeme procesiranja ne utječe na rezultat.
<b>Pire od guave</b>	Boja (skladišteno na 4°C)	400 MPa – 600 MPa, 25°C, 15 min	Procesiran pire od guave gotovo je iste boje kao svježi.
<b>Džem od jagode</b>	Antocijanin tijekom skladištenja	400 MPa, 25°C, 5 min	Povećana koncentracija pektina te smanjen udio antocijanina tijekom skladištenja.
<b>Sok od naranče</b>	Boja	600 MPa, 40°C, 15 min	Povišeni tlak rezultirao je manjim promijenama u boji od tretmana termalnom pasterizacijom tijekom skladištenja osim pri temperaturi od 30°C.

Palou i sur., 1999. istraživali su boju pirea banane koji je obrađen povišenim tlakom te je dokazano da je navedenom obradom sačuvana izvorna boja pirea.

Butz i sur., 2003. zabilježili su da kod sokova bez obrade i sokova tretiranih povišenim tlakom ne rezultira značajnom razlikom u količini karotenoida između tretiranih i kontrolnih uzoraka. Voće i povrće koje se koristilo su: naranče, jabuke, breskve, miješano citrusno voće, mrkve, rajčice te zamrznute maline.

### **2.4.3. UTJECAJ POVIŠENOG HIDROSTATSKOG TLAKA NA BOJU POVRĆA**

Iz podataka navedenih u tablici 2 vidljiva je promjena boje i pigmenata nekoliko povrtnih proizvoda nakon tretiranja HPP-om. Weemeas i sur., 1999. proučavali su utjecaj tlaka i temperature na degradaciju klorofila u ekstraktu brokule. Zabilježeno je značajno smanjenje klorofila kod kombiniranog procesiranja povišenim tlakom pri temperaturama višim od 50°C. U drugom istraživanju istog autora provedeno je istraživanje kinetike degradacije zelene boje soka brokule (boja i klorofil). Tlak i temperatura koji su korišteni iznosili su 0.1 MPa – 850 MPa uz temperaturu od 30°C - 90°C. Nije zabilježeno značajno smanjenje zelene boje kod procesiranja pri tlaku od 800 MPa i temperaturama između 30°C - 40°C. Pri sobnoj temperaturi, klorofil je bio stabilan, kao što je i karoten.

Procesiranjem povišenim tlakom pri temperaturama između 50°C - 60°C zabilježena je degradacija zelene boje tj. pigmenta zaslužnog za zeleno obojenje.

**Tablica 2** Utjecaj procesiranja pod povišenim tlakom na boju i pigmente odabranih vegetabilnih proizvoda (Ahmed i Ramaswamy, 2006).

<b>Proizvod</b>	<b>Boja i pigment</b>	<b>Tlak, temperatura i vrijeme</b>	<b>Glavna opažanja</b>
<b>Sok od rajčice</b>	Karotenoidi	1400 MPa	Neznatno smanjenje intenziteta boje soka od rajčice
<b>Sok od brokule</b>	Boja	800 MPa, 50°C, 50 min	Gubitak boje od 10%
<b>Sok od mrkve</b>	Karotenoidi	300 MPa, 50 °C	Najveća stabilnost karotena: 68.9% I 49.0%
<b>Kriške karambole</b>	Vrijednost boje	800 MPa, 40 °C, 3 min	Zadržana najbolja boja od svih uzoraka
<b>Pire od rajčice</b>	Vrijednosti boje i sadržaj likopena	300 MPa -700 MPa, 20-90°C	Vrijednost je pokazala najveću vrijednost boje, dok je uočeno povećanje sadržaja likopena
<b>Zeleni grašak</b>	Vrijednost boje	1000 MPa, 75 °C, 80 s	Intenzivnija zelena boja na površini
<b>Kockice krumpira</b>	Digitalna slika i vrijednost boje	250 MPa, -27 °C, 24 h	Smrzavanje s navedenim pomakom tlaka pokazalo je najmanji intenzitet smeđenja
<b>Pire od rajčice</b>	Boja	300 MPa -700 MPa, 65 °C, 60 min	Nije došlo do degradacije boje rajčice pri kombiniranom procesu

Razaranje i gubitak zelene boje u soku od brokule opisano je kinetičkim modelom u dva koraka. Konstante brzine razgradnje za drugi korak razgradnje bile su blizu nule, što ukazuje na to da je na tim temperaturama pirofeofitinizacija bila zanemariva. Na višim temperaturama (70 °C – 80 °C) u kombinaciji sa tlakom (0,1 MPa do 850 MPa) došlo je do pojave feofitina kao i kasnijeg stvaranja pirofeofitina.

Konstante brzine razgradnje pri atmosferskom i povišenom tlaku ukazivale su da je pretvorba klorofila u feofitin na 70°C blago ubrzana povećanjem tlaka.

Na višim temperaturama razgradnje primijećeno je značajno povećanje konstantne brzine stvaranja feofitina s povećanjem tlaka. Međutim, čini se da povećanje tlaka iznad 500 MPa nije rezultiralo daljnjim povećanjem konstante brzine stvaranja feofitina. Formiranje pirofeofitina uočeno je pri tlakovima od 300 MPa –500 MPa, dok je razgradnja feofitina primijećena pri višem tlaku. Iz kinetičkih podataka tlaka i temperature za razgradnju feofitina i pretvorbu klorofila u feofitin zaključeno je da je na korake razgradnje utjecao tlak na različite načine (Ahmed i Ramaswamy, 2006).

Skladištenje graha koji je procesiran visokim tlakom značajno je utjecalo na vrijednosti odnosno intenzitet boje. Zelena boja sirovog i visokotlačenog graha postupno se smanjivala te je tijekom skladištenja postala blijedožuta/zelena boja. Grah procesiran visokim tlakom bio je ujednačenije promijenjen u boji u usporedbi sa sirovim grahom, ali je imao neprihvatljiv izgled nakon 1 mjeseca skladištenja na 60 °C. Negativni učinci na boju nakon visokotlačne obrade vjerojatno su inducirani zaostalom aktivnošću enzima poput lipoksigenaze, peroksidaze ili klorofilaze.

Tijekom studija o vijeku trajanja soka od mrkve obrađenog pod visokim tlakom, Park i sur., 2001. izvijestili su da su uvjeti HPP na 400 MPa i 25 °C tijekom 5 minuta najbolji za industrijsku uporabu. Parametri boje soka od mrkve pokazali su statistički beznačajne promjene tijekom 4 tjedna skladištenja na 4 °C.

## 2.5. UTJECAJ POVIŠENOG HIDROSTATSKOG TLAKA NA MIKROORGANIZME

Dosadašnji su rezultati pokazali da se visoki hidrostatski tlak može uspješno primijeniti u svrhu smanjenja broja ili čak uništenja mikroorganizama, te da uspješno djeluje na konformacijske promjene pojedinih molekula čime se mijenjaju (poboljšavaju) funkcionalna svojstva tretiranog proizvoda, te da u proizvodima podvrgnutim zamrzavanju izaziva pozitivne efekte (Lelas, 2006). Inaktivacija mikroorganizama ključna je za sigurnost hrane, posebno kada se koristi netermalna tehnologija kao što je procesiranje pod povišenim tlakom (HPP). Većina istraživanja pokazuje da primjena HPP-a dovodi do inaktivacije većine vegetativnih bakterijskih stanica, te se na taj način održava sigurnost te produžuje rok trajanja proizvoda od voća i povrća (Gong i sur., 2015.; Marszalek i sur., 2017).

Odabir adekvatnih tehnoloških parametara je vrlo važan. Mnogi nepasterizirani proizvodi od voća i povrća, kao što su sokovi ili smoothieji, mogu biti izloženi bakterijskom kvarenju unutar željenih uvjeta skladištenja zbog velikog broja nativnih mikroorganizama. Nizak pH voća može malo produžiti rok trajanja, ali uglavnom proizvodi zaštićeni HPP metodom zahtijevaju hladne uvjete kako bi se izbjeglo kvarenje (Tribst i sur., 2009.; Barba i sur., 2012). Postoji potencijalna opasnost od prilagođavanja mikroorganizama na stresne uvjete kao što je povišeni tlak. U slučaju obrade hrane u uvjetima slabijeg intenziteta i kod procesiranja HPP-om, mikroorganizmi izloženi stresu mogu se reverzibilno oštetiti, što može uzrokovati smrt stanice (poželjno) ili kao rezultat reakcije prilagođavanja može preživjeti, čime nastaje „stresno-prilagođena“ stanica. Takve stanice, u poželjnim uvjetima mogu ponovno narasti čime dolazi do opasnosti od kontaminacije hrane i zbog navedenog problema potrebno je vršiti procesiranje s višim parametrima (tlak). Značajan faktor koju utječe na efektivnost HPP-a na industrijskoj razini je broj inicijalnih mikroorganizama. Procesni parametri (tlak, temperatura, vrijeme) su od velike važnosti. Ključni faktori za kvalitetu i stabilnost proizvoda konzerviranih HPP-om su vrsta matrica koje se koriste; pH, aktivnost vode ( $a_w$ ), struktura hrane i obrada prije proizvodnje (blanširanje, mljevenje, prešanje) (Barba i sur., 2015). Općenito, veća je inaktivacija mikroorganizama primijećena u puferima nego u matrici hrane s istom pH vrijednošću (Tahiri i sur., 2006.; Sokołowska i sur., 2014). Nadalje, veći sadržaj topljivih tvari u sokovima ima pozitivan učinak na mikrobiološko preživljavanje, što ukazuje na baroprotekcijski učinak šećera (Sokołowska i sur., 2013).

### **2.5.1. UTJECAJ POVIŠENOG HIDROSTATSKOG TLAKA NA KVASCE I PLIJESAN**

Mikrobiološka otpornost na visoki tlak uvelike ovisi o vrsti mikroorganizma i može varirati među sojevima iste vrste. Kvasaci i plijesni su mikroorganizmi najosjetljiviji na tretman pod povišenim tlakom. Ispostavilo se da se njihova inaktivacija postiže tlakom između 200 MPa i 400 MPa (Hsu i sur., 2008.; Liu i sur., 2013.; Georget i sur., 2015.; Hurtado i sur., 2017).

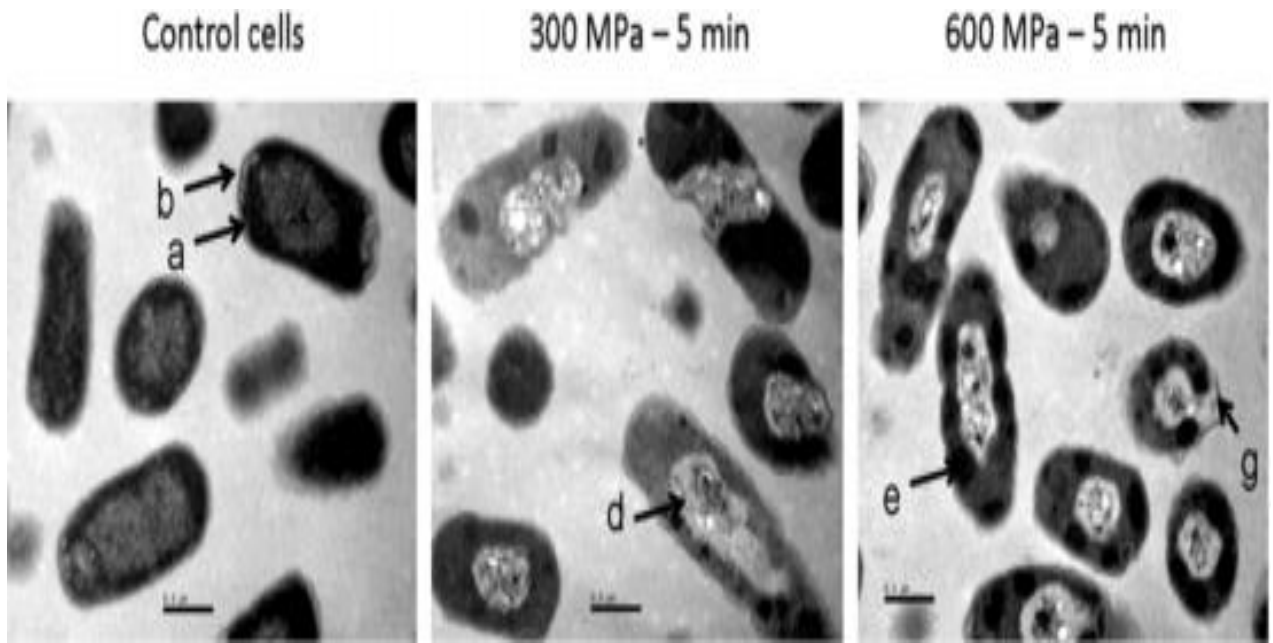
### **2.5.2. UTJECAJ POVIŠENOG HIDROSTATSKOG TLAKA NA BAKTERIJE**

Visoki tlak može značajno utjecati na morfologiju stanica i uzrokovati mnoge promjene u staničnoj membrani, na metaboličke i biokemijske reakcije u stanici bakterije, pa čak i gene (Ghalavand i sur., 2015.). Sumnja se da je stanična membrana prvi organ koji se ošteti pod povišenim tlakom (Macdonald, 1984).

Stanična membrana odgovorna je za održavanje morfologije stanica, reguliranje transporta odabranih tvari izvana u stanicu i obrnuto, kao i za stabilizaciju osmotskog tlaka stanice (Mañas i sur., 2004). Uništavanje stanične membrane može uzrokovati destabilizaciju prirodnog puta metabolizma te također utjecati na unutarnje i vanjske strukturne promjene u stanicama.

Kao rezultat destabilizacije dolazi do odvajanja stanične membrane od stanične stjenke, produženja stanica i kondenzacije citoplazmatskog materijala u amorfnim regijama (Patterson, 2005; Considine i sur., 2008; Rendueles i sur., 2011). Oštećene stanice imaju karakteristične bore i izobličenja, što dovodi do curenja stanične tekućine kod bakterija (Tahiri i sur., 2006.; Yang i sur., 2012). Na Slici 6. vidljiv je prikaz utjecaja procesiranja povišenim tlakom na bakterije dok je u Tablica 3 prikazana prema parametrima inaktivacija bakterija i spora.





**Slika 6** Prikaz utjecaja procesiranja povišenim tlakom na bakterije (Prieto-Calvo i sur., 2014).

**Tablica 3** Inaktivacija bakterija i spora nakon obrade proizvoda povišenim tlakom (Tahiri i sur., 2006).

Mikroorganizam	Proizvod	Uvjeti procesiranja			Rezultat
		Tlak (MPa)	Temp. (°C)	Vrijeme (min)	
<i>Escherichia coli</i>	Sok od cikle	400	20	1-10	6.2 log redukcija
<i>Escherichia coli</i>	Pire od jagode	200 - 500	21	2	0.8 – 4.4 log redukcija
<i>Listeria monocytogenes</i>	Sok od jabuke	500	25	1	4.8 log redukcija
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sok od jabuke	500	25	1	2.4 log redukcija
<i>Salmonella</i>	Mladi luk	250 - 500	20	2	1.3 – 4.7 log redukcija
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	Pire od rajčice	700	20-90	0.5 - 2	2.7 – 6-1 log redukcija

## 2.6. UTJECAJ POVIŠENOG HIDROSTATSKOG TLAKA NA VITAMINE U VOĆU I POVRĆU

Askorbinska kiselina i karotenoidi važni su pokazatelji nutritivne vrijednosti i kvalitete. Askorbat je prisutan u većini povrća i voća i snažan je redukcijski agens koji igra ključnu ulogu u prehrani ljudi, djelujući kao elektrondonor u  $O_2$  ovisno o reducirajućim reakcijama, te

promičući željezo i bakar u njihovim smanjenim stanjima svojom antioksidativnom funkcijom. HPP za konzerviranje namirnica se može koristiti zbog izbjegavanja štetnih učinaka, uključujući gubitke vitamina do kojih dolazi pri tradicionalnoj pasterizaciji mnogih namirnica na visokim temperaturama. Tradicionalna termička obrada soka od naranče uzrokuje gubitke vitamina, uključujući gubitak vitamina C i promjene u karotenoidima (važne za boju i nutritivnu vrijednost soka). Nekoliko je studija pokazalo da na da HPP minimalno utječe na askorbinsku kiselinu i beta-karoten. Tretmani sokova od naranče pod tlakom imaju minimalan učinak na ostale parametre kvalitete soka od naranče, uključujući pH i °Brix, tijekom produženog skladištenja u hladnjaku. Tijekom istraživanja Bignon, 1996. primijetio je da obrada tlakom značajno ne utječe na sadržaj vitamina A, C, B1, B2 i E u voću i biljnim proizvodima za razliku od termičke obrade. Osim navedenog, u slučaju pirea od jagoda i guave, utvrđeno je da je smanjenje sadržaja vitamina C tijekom skladištenja nakon tretiranja pod tlakom (400 MPa -600 MPa, 15min -30 min, 20 ° C) znatno niže nego u svježim proizvodima (Sancho, F. i sur, 1999). Napravljeno je detaljnije kinetičko istraživanje stabilnosti askorbinske kiseline u pufernoj otopini, soku od naranče i soku od rajčice pod povišenom temperaturom i tlakom (Van Den Broeck, 2006). Provedenim istraživanjem došlo se do zaključka da je samo značajna degradacija askorbinske kiseline kada su se tlakovi od oko 850 MPa kombinirali s temperaturama između 60 °C i 80 °C i to značajnije u soku od rajčice i naranče nego u puferu. Smatra se da je razlog navedenog upravo visoka temperatura tijekom obrade.

## **2.7. UTJECAJ POVIŠENOG HIDROSTATSKOG TLAKA NA KOLIČINU ANTIOKSIDANSA U VOĆU I POVRĆU**

U soku od naranče prirodno je prisutan veliki broj i raznolikost antioksidansa koji su odgovorni za potencijalno zaštitno djelovanje i služe u borbi protiv određenih degenerativnih bolesti.

Prema posljednjim epidemiološkim studijama, česta konzumacija soka od naranče povezana je sa smanjenim rizikom od oksidativnih oštećenja i bolesti povezanih sa slobodnim radikalima, kao što su različite vrste karcinoma, kardiovaskularne ili neurološke bolesti.

Nedavna istraživanja pokazala su da sokovi tretirani HHP -om zadrže veću koncentraciju antioksidansa u odnosu na termički obrađene proizvode. Različiti sastojci pridonijeli su ukupnoj

antioksidativnoj aktivnosti soka od naranče, ali L-askorbinska kiselina bila je najvažniji antioksidantni spoj koji je u trenu reagirao sa slobodnim radikalima, dok je reakcija drugih antioksidansa iz soka od naranče (uglavnom flavonoida i drugih polifenolnih spojeva) bila vremenski ovisna.

Obrada visokim tlakom od 600 MPa na 40°C tijekom 4 minute dovela je do bolje antioksidativne aktivnosti tijekom skladištenja u usporedbi s konvencionalnom termičkom pasterizacijom (80°C, 60 sek), uglavnom zbog smanjenja stope razgradnje L-askorbinske kiseline. Bilo je očito da su toplinski tretmani izazvali smanjenje aktivnosti uklanjanja slobodnih radikala i da su istovremeno odgovorni za razgradnju L-askorbinske kiseline u soku crvene naranče (Sanchez-Moreno i sur., 2003. i Ancos i sur., 2002).

## **2.8. UTJECAJ POVIŠENOG HIDROSTATSKOG TLAKA NA FENOLNI SADRŽAJ**

Preradom voća tijekom proizvodnje voćnih proizvoda uvijek se promijeniti sadržaj fenolnih spojeva, a toplinskom obradom zasigurno se smanjuje udio fenolnih spojeva u voću i voćnim proizvodima. Optimiziranje uvjeta HPP procesa (tlak, temperatura i vrijeme) važno je za kvantitativno određivanje fenola. Nekoliko je autora izvijestilo o povećanoj ekstraktabilnosti obojenih pigmenata u komponentama hrane pri ekstremnim tlakom što dovodi do povećanja sadržaja polifenola (Singh i sur., 2019). Većina studija pokazala je da su koncentracije ukupnih fenolnih spojeva i nekih fenolnih spojeva (hesperetin, naringenin i antocijanin) povećane ili nepromijenjene nakon obrade sa HPP-om. Autori su dokazali da su primjene HPP na različitim voćnim proizvodima (sok od naranče, sok od limuna, sok od jabuke, pire od jagoda, pire od kivija, sok od naranče/mrkve, sok od jabuke/brokule) malo promijenile sadržaj fenolnih spojeva u konačnom proizvodu (Tahiri i sur., 2006).

Učinci termičke obrade i obrade visokim hidrostatskim tlakom (HPP) na fenole u voća, voćnim sokovima, kod nektara, kaša, pjena, smoothieja istraživani i ocjenjivani su kroz nekoliko studija. Ukupni fenolni sadržaj (TPC) kod soka od naranče značajno se povećao nakon procesiranja HPP-om pri 350 MPa i 500 MPa/30-150 sek. TPC je pokazao porast u prva 3 dana i počeo se smanjivati nakon 5 dana za uzorke tretiranje HPP-om. TPC kontrolnih uzoraka je također smanjen tijekom skladištenja pri 4 °C. Osim navedenog, značajno povećanje fenola nakon

obrade pri 300-400 MPa/2,5-25 min primijećeno je u nefiltriranom soku od naranče (Chen D i sur., 2013.).

Alpas , 2013. također je proućavao sokove od naranče tretirane sa 200 - 400 MPa/5 - 25 °C/5 - 10 min. Kod tretiranja uzoraka sa HPP-om nisu zabilježene znaćajne promjene u koncentraciji fenolnih spojeva, dok je za TT- toplinski tretman (85° C/10 min), zabilježen znaćajan pad u koncentraciji fenola.

## **2.9. UTJECAJ POVIŠENOG HIDROSTATSKOG TLAKA NA KOLIĆINU ANTOCIJANINA**

Antocijanini su biljni pigmenti nastali spajanjem šećera s molekulom antocijanidina, a antocijanidini su analozi antocijanina bez šećera. U antocijaninu je bazićni ion flavilija sa šećerima vezan na različite boćne skupine dok u antocijanidinima se na boćne skupine iona flavilijuma ne vežu šećeri. Navedeno je glavna razlika između antocijanina i antocijanidina. Budući da su prisutne različite vrste šećera, oni mogu biti u različitim boćnim skupinama, što dovodi do širokog spektra vrsta antocijanina. Oba spoja ovise o pH i posjeduju antioksidativna svojstva. Pomažu u procesu opraišivanja i djeluju kao repelenti lićinki koje nanose štetu biljnom tijelu.

Mnogi ćimbenici utjeću na stabilnost antocijanina u proizvodu od voća ukljućujući temperaturu, pH, kisik, enzime, prisutnost ko-pigmenata i metalnih iona, askorbinske kiseline, sumpor dioksida kao i šećera i njihovih proizvoda razgradnje. Antocijanini (od grćkog *anthos* = cvijet, *kyáneos* = purpurna boja) su u vodi topivi biljni pigmenti koji na svijetlu reflektiraju od tamno crvene do plavićaste boje i vrlo ćesto ukrašavaju jesenske plodove i lišće vatrenim bojama. Kao što je već spominjano, uloga tih pigmenata jest antioksidacijska zašćita od šćetnog UV zraćenja.

Antocijanini pripadaju vrsti flavonoida, a dijele se na one koji sadrže ili ne sadrže šećer (glikozide i aglikone). Ukupno je poznato 250 razlićitih antocijanina (Anonymous, 2021).

Tijekom raznih istraćivanja, zabilježno je da obrada prehrambenog proizvoda od voća ili baznog voća s povišnim hidrostatskim tlakom – HPP na sobnoj temperaturi ( oko 20<sup>0</sup>C) ima minimalan ućinak na antocijaninski sadržaj tretiranog voća, ali i povrća. Obiće se izvještavalo da su antocijani nestabilni, osobito na visokim temperaturama i tijekom prerade i skladišćenja.

Kod provedenih istraživanja ne opaža se značajna promjena antocijanina u sjemenkama jagoda nakon tretiranja sa HPP procesom od 600 MPa na sobnoj temperaturi. Obradom matičnog soka HPP-om se učinkovito zadržala koncentracija antocijanina, fenolnih spojeva i boje kod soka od naranče nakon obrade pri 350 MPa i 550 MPa na sobnoj temperaturi (Varela-Santos i sur., 2012). Alpas, 2013. također nije primijetio značajno smanjenje koncentracija monomernih pigmenata antocijanina za uzorke tretirane HPP-om, ali je termičkom obradom (85°C/10 minuta) značajno smanjena koncentracija monomernih pigmenata antocijanina u sokovima od naranče. Utvrđeno je veće zadržavanje istog kod uzoraka tretiranih HPP-om u usporedbi s uzorcima obrađenim HTST-om (110 °C/8.6 sek. ) u zamućenom (gustom) soku od naranče. U drugom istraživanju dokazano je da se 63% antocijanina od ukupnih antocijanina u matičnom soku od naranče zadržava nakon obrade HPP-om uz 400 MPa (Alpas, 2013). Oobrađeni skladišteni sok i na kraju 21. i 72. dana skladištenja na 4°C zadržava 63% antocijanina.

Kod uzorka soka od borovnice tretiranog sa 600 MPa na 42°C, koncentracija antocijanina nije značajno smanjena (Ancos i sur., 2002).

Također nije primijećena značajna promjena udjela cijanidin-3-glukozida kod soka crvene naranče tretiranog HPP-om. Uz navedeno nakon obrade HPP-om voćnih pirea, posebno pirea od kupine, nije došlo do promjene koncentracije antocijanina, isto je zabilježeno za polovice svježih jagoda (Terefe i sur., 2009).

Šumska jagoda i pitoma jagoda pokazale su 89% zadržavanja antocijanina nakon tretiranja HPP-om pri 500 MPa/ 50°C /10 min. U nastavnom istraživanju zaključeno je kako stabilnost antocijanina kod jagode i crvene maline nakon obrade istih sa 800 MPa /15 minuta pri umjerenoj temperaturi (18°C -22 °C) proizlazi iz potpune inaktivacije polifenoloksidaze (Pozo-Insfran, 2006).

### 3. RASPRAVA

U današnje vrijeme potrošači su sve bolje informirani i educirani o značaju pravilne prehrane te važnoj ulozi u prevenciji poremećaja uzrokovanih stresom i ubrzanim načinom života koji ostavlja posljedice na zdravlje. Iz prethodno navedenog može se zaključiti da među najvažnije kriterije pri odabiru namirnica spadaju visoka očuvana organoleptička svojstva i nutritivna vrijednost, ali i ekološki aspekt proizvodnje, pri čemu konvencionalne metode konzerviranja hrane ne mogu u potpunosti zadovoljiti. Borba protiv uzročnika kvarenja hrane i patogenih mikroorganizama uzima sve veći zamah te se u zadnjih nekoliko godina intenzivno razvija koncept minimalnog procesiranja hrane ili konzerviranje zaprekama.

Desetljećima se istražuju brojne nove metode i njihova primjena u svrhu inhibiranja patogenih mikroorganizama, međutim, značajan broj istraživanja proveden je na model otopinama i in vitro, dok je hrana vrlo složen i kompleksan te promjenjiv medij, što komplicira primjenu dobivenih rezultata na konkretan medij. Spomenuto izaziva zaključak da će u budućnosti biti potrebno posvetiti još više pažnje optimiranju primjene novih metoda u svrhu postizanja što manjih strukturalnih promjena te što bolje redukcije mikroorganizama. U daljnjim se istraživanjima svakako trebaju uzeti u obzir i faktori koji utječu na sigurnost hrane, s obzirom da je to danas jedan od najznačajnijih pojmova koji se povezuju sa hranom. Navedeni koncept podrazumijeva primjenu minimalno invazivnih ili neinvazivnih metoda obrade hrane poput visokog hidrostatskog tlaka u svrhu postizanja sigurnosti hrane i konzerviranja namirnica uz maksimalno očuvanje njihovih prirodnih izvornih svojstava.

Svrha predmetnog rada je pružiti pregled na promjene koje se događaju na pojedinim sastojcima voća ili povrća uslijed primjene određenih novih i suvremenih metoda procesiranja hrane.

Visoki hidrostatski tlak je klasična metoda procesiranja hrane s visokim potencijalom kako bi se zadovoljili svi zahtjevi koje trenutno nameću trendovi razvoja u prehrambenoj industriji. Visoki hidrostatski tlak je metoda koja podrazumijeva obradu namirnice tlakovima između 50 MPa i 1000 MPa u trajanju od nekoliko sekunda do nekoliko minuta. Visoki hidrostatski tlak jedna je od „novijih“ metoda procesiranja sirovina koja se već i komercijalno primjenjuje u prehrambenoj industriji, a prvi put je uporabljena u Japanu, a nakon toga značajno se počela koristiti u SAD-u i Europi, ali još je vrlo istraživana i u našim laboratorijima.

Mikrobiocidni učinak visokog tlaka zasniva se na oštećenju staničnih stjenki i membrana, te unutarstaničnom djelovanju poput inhibicije sinteze proteina, uništenja ribosoma, inaktiviranja staničnih enzima ili promjena na razini genetskih mehanizama. Spomenutim učinkom je otvoren put ka razvoju novih načina proizvodnje već postojećih tradicionalnih voćnih proizvoda.

Visoki tlak djeluje trenutno i ujednačeno na cijelu masu proizvoda neovisno o volumenu, obliku ili sastavu što je veoma korisno za tretiranje proizvoda. Rad kompresije tijekom obrade odražava se povišenjem temperature adijabatskim zagrijavanjem za oko 3 °C za svakih 100 MPa. Nakon dekompresije temperatura proizvoda se snižava na početnu temperaturu i na spomenut način namirnica je samo kratkotrajno izložena višim temperaturama koje ne moraju izazvati nikakvu značajniju promjenu njenih značajki.

Ukoliko se povišenom hidrostatskom tlaku od 500 MPa podvrgava voćni sok temperature 22 °C u trajanju od 5 minuta, tada će doći do povišenja temperature za 15 °C, a sok će za vrijeme tretiranja postići temperaturu od oko 37 °C (Lelas, 2006). Treba spomenuti da je utvrđeno kako HPP ne razara kovalentne veze, ali utječe na vodikove i ionske veze čime se objašnjava njegovo djelovanje na biološki aktivne proteinske sustave (mikroorganizme). Upravo zbog navedenog ovaj se postupak može uspješno primijeniti kao predtretman sterilizacije, odnosno pasterizacije proizvoda za koju je potrebno primijeniti znatno blaže uvjete.

Tretiranje povišenim hidrostatskim tlakom – HPP može zamijeniti postupak blanširanja vrućom vodom te može olakšati usitnjavanje (mljevenje) hrane, a utvrđeno je da povoljno djeluje na strukturu proizvoda pri zamrzavanju odnosno sušenju, te da povoljno djeluje na proces ekstrakcije (niže temperature, veće iskorištenje) (Lelas, 2006 ). Tretiranje HPP-om će u budućem procesiranju hrane radi produljenja roka trajanja imati značajnu ulogu, posebno za proizvode koji se proizvode od sirovina biljnog podrijetla.



## 4. ZAKLJUČCI

1. Potencijal primjene visokog tlaka u komercijalne svrhe je u inaktivacija mikroorganizama i enzima u hrani stoga se visoki tlak u preradi voća i povrća također primjenjuje s ciljem inaktivacije mikroorganizama i enzima te produljenja stabilnosti proizvoda.
2. Pri sobnoj temperaturi, primjena visokog tlaka od 400 MPa do 900 MPa uzrokuje inaktivaciju vegetativnih mikroorganizama, smanjuje enzimsku aktivnost uz istodobno zadržavanje sadržaja vitamina te očuvanje svojstava.
3. Bakterije koje su inače manje osjetljive na visoku temperaturu, također su manje osjetljive na djelovanje povišenog hidrostatskog tlaka – HPP.
4. Primjenom povišenog hidrostatskog tlaka – HPP u prihvatljivo vrijeme se postiže inaktivacija kvasaca, plijesni, psihrotrofnih i koliformnih bakterija te HPP znatno efikasnije uništava gram (-) bakterije u odnosu na gram (+) bakterije.
5. Obrada visokim hidrostatskim tlakom - HPP- uzrokuje složene promjene u strukturi i reaktivnosti biopolimera kao što su škrob i proteini.
6. Ukoliko je voda izložena djelovanju visokog hidrostatskog tlaka, dolazi do sniženja njene temperature leđišta i tališta, ovisno o visini tlaka, ali ova činjenica još uvijek nije komercijalno iskorištena, iako su velike mogućnosti korištenja za proizvode podvrgnute zamrzavanju (snižava se temperatura zamrzavanja - nema kristala leda).

## 5. LITERATURA

1. Ancos B., Sgroppo S., Plaza, L., Cano, P. (2002.): Possible nutritional and health-related value promotion in orange juice preserved by high-pressure treatment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **82**, 790-796.
2. Alpas, H. (2013). Effect of high hydrostatic pressure processing (HHP) on quality properties, squeezing pressure effect and shelf life of pomegranate juice. *Journal of Current Opinion in Biotechnology*, **37**, 78-92.
3. Anese, M., Nicoli, M. C., Dall'aglio, G., Lerici, C. R. (1995.): Effect of high pressure treatments on peroxidase and polyphenoloxidase activities. *Journal of Food Biochemistry* **18**, 285–293.
4. Anonymus (2021.): <https://www.podravka.hr/clanak/650d47c6-610e-11eb-b0dc-0242ac120043/antocijanini/>, pristupljeno 16.10.2021.
5. Ahmed J. S., Ramaswamy H., (2006.): Changes in colour during high pressure processing of fruits and vegetables, Stewart Postharvest Review, Canada.
6. Barba, F.J., Esteve, M.J., Frígola, A. (2012.): High pressure treatment effect on physicochemical and nutritional properties of fluid foods during storage. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **11**, 307–322
7. Barba, F.J., Terefe, N.S., Buckow, R., Knorr, D., Orlie, V., (2015.): New opportunities and perspectives of high pressure treatment to improve health and safety attributes of foods. *Journal of Food Research International* **77**, 725–742.
8. Bayindirli A., Alpas H., Bozoglu F., Hizal M. (2006.): Efficiency of high pressure treatment on inactivation of pathogenic microorganisms and enzymes in apple, orange, apricot and sour cherry juices. *Food Control – Journals*, **17**, 52–58.
9. Bignon, J. (1996.) Cold pasteurizers hyperbar for stabilization of fresh fruit juices. *Fruit processing*, **2**, 46-54.
10. Buckow R., Weiss U., Knorr D. (2009.): Inactivation kinetics of apple polyphenol oxidase in different pressure-temperature domains. *Journal of Innovative Food Science and Emerging Technologies* **10**, 441–448.

11. Butz P, Fernandez García A, Lindauer R, Dieterich S, Bognar A, and Tauscher B. (2003.): Influence of ultra high pressure processing on fruit and vegetable products. *Journal of Food Engineering*, **56**, 233–236.
12. Chakraborty S., Rao P. S., Mishra, H. N. (2014.): Effect of pH on enzyme inactivation kinetics in high-pressure processed pineapple (*Ananas comosus* L.) puree using response surface methodology. *Food and Bioprocess Technology*, **7**, 3629–3645.
13. Cortés C., Torregrosa, F., Esteve, M. J., Fígola, A. (2006.): Carotenoid profile modification during refrigerated storage in untreated and pasteurized orange juice and orange juice treated with high-intensity pulsed electric fields. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 6247–6254.
14. Francis F. J. (1985.): Pigments and other colorants. *Journal of Food Biochemistry*, 545–584.
15. Garcia-Palazon, A., Suthanthangjai, W., Kajda, P., Zabetakis, I. (2004.): The effects of high hydrostatic pressure on beta-glucosidase, peroxidase and polyphenol oxidase in red raspberry (*Rubus idaeus*) and strawberry (*Fragaria x ananassa*). *Food Chemistry*, **88**, 7–10.
16. Georget E., Sevenich R., Reineke K., Mathys A., Heinz V., Callanan M., Rauch C., Knorr D. (2015.): Inactivation of microorganisms by high isostatic pressure processing in complex matrices. *Journal of Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **27**, 1–14.
17. Ghalavand R., Nikmaram N., Kamani M. H. (2015.): The effects of high pressure process on food microorganisms. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, **4**, 505–509.
18. Gong Y., Jian-Yong Y., Ping Q., Jun M., Xiao-Juan Z., Rong-Rong L. (2015.): Comparative study of the microbial stability and quality of carrot juice treated by high pressure processing combined with mild temperature and conventional heat treatment. *Journal of Food Process Engineering*, **38**, 395–404.
19. Hurtado A., Guàrdia M.D., Picouet P., Jofré A., Ros J.M., Bañón S. (2017.): Stabilization of red fruit-based smoothies by high-pressure processing. part a. Effects on microbial growth, enzyme activity, antioxidant capacity and physical stability. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **97**, 770–776.

20. Hsu K. C., Tan F. J., Chi H. Y. (2008.): Evaluation of microbial inactivation and physicochemical properties of pressurized tomato juice during refrigerated storage. *Journal of Food Science and Technology*, **41**, 367–375.
21. Kim Y. S., Park S. J., Cho Y. H., Park J. (2001.): Effects of combined treatment of high hydrostatic pressure and mild heat on the quality of carrot juice. *Journal of Food Science* **66**, 1355–1360.
22. Lelas V. (2006.): Nove tehnike procesiranja hrane. *Mljekarstvo*, **56** (4) 311-330.
23. Leadley C, Williams A, Jones L. (2003.): New technologies in food preservation. Key Topics in Food Science and Technology, Campden & Chorleywood Food Research Association Group, 8.
24. Liu F., Wang Y., Bi X., Guo X., Fu S., Liao X. (2013.): Comparison of microbial inactivation and rheological characteristics of mango pulp after high hydrostatic pressure treatment and high temperature short time treatment. *Journal of Food and Bioprocess Technology*, **6**, 2675–2684.
25. Macdonald A.G. (1984.): The effects of pressure on the molecular structure and physiological functions of cell membranes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B – Journals* **304**, 47–63.
26. Mañas P., Bernard M., Mackey B. M. (2004.): Morphological and physiological changes induced by high hydrostatic pressure in exponential- and stationary-phase cells of *Escherichia coli*: relationship with cell death . *Journal of Applied and Environmental Microbiology*. **70**, 1545–1554.
27. Marszałek K., Woźniak Skąpska S., Mitek M. (2017.): High pressure processing and thermal pasteurization of strawberry purée: quality parameters and shelf life evaluation during cold storage. *Journal of Food Science and Technology*, **54**, 832–841.
28. Palou E, Lopez-Malo A, Barbosa-Canovas GV, Welti-Chanes J and Swanson B.G. (1999): Polyphenyloxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. *Journal of Food Science*, **64**, 42–45.
29. Patterson, M.F. (2005.): Microbiology of pressure-treated foods. *Journal of Applied Microbiology*. **98**, 1400–1409.

30. Perera, N., Gamage, T. V., Wakeling, L., Gamlath, G. G. S., Versteeg, C. (2010.): Colour and texture of apples high pressure processed in pineapple juice. *Journal of Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **11**, 39–46.
31. Polydera, A. C., Stoforos, N. G., Taoukis, P. S. (2005.): Quality degradation kinetics of pasteurised and high pressure processed fresh navel orange juice: Nutritional parameters and shelf life. *Journal of Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **6**, 1–9.
32. Pozo-Insfran, D.D. (2006.): Emerging Technologies and Strategies to Enhance Anthocyanin Stability. *Journal of Food and Health science*, **2**, 1-144.
33. Prieto-Calvo, M., Prieto, M., López, M., Alvarez-Ordóñez, A. (2014.): Effects of high hydrostatic pressure on Escherichia coli ultrastructure, membrane integrity and molecular composition as assessed by FTIR spectroscopy and microscopic imaging techniques. *Molecules Journal*, **19**, 21310–21323.
34. Rendueles, E., Omer, M.K., Alvseike, O., Alonso-Calleja, C., Capita, R., Prieto, M. (2011.): Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: a review. *Journal of Food Science and Technology*, **44**, 1251–1260.
35. Saad-Nehme, J., Silva, J. L., Meyer-Fernandes, J. R. (2001.): Osmolytes protect mitochondrial F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATPase complex against pressure inactivation. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1546**: 164–170.
36. Sancho, F., Lambert, Y., Demazeau, G., Largeteau, A., Bouvier, J-M. and Narbonne, J-F. (1999.): Effect of ultra-high hydrostatic pressure on hydrosoluble vitamins. *Journal of Food Engineering*, **39**, 247-253
37. Sanchez-Moreno, C., Plaza, L., Ancos, B. and Cano, P. (2003.): Effect of high pressure processing on health-promoting attributes of freshly squeezed orange juice (*Citrus sinensis* L.) during chilled storage. *Journal of European Food Research and Technology*, **216**, 18-22.
38. Sánchez-Moreno, C., Plaza, L., Elez-Martinez, P., De Ancos, B., Martin-Belloso, O., Cano, M. P. (2005.): Impact of high pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice in comparison with traditional thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53** (11), 4403–4409.
39. Schwartz S. J. and von-Elbe J. H. (1983.): Kinetics of chlorophyll degradation to pyropheophytin in vegetables. *Journal of Food Science*, **48**, 1303– 1306.

40. Singh P., Saini P., Singh A. (2019.): Effect of high pressure processing on quality of fruits and vegetable products: Trends & Prospects in Processing of Horticultural Crops, Today and Tomorrow's Printers and Publishers, India.
41. Sokołowska B., Skąpska S., Fonberg-Broczek M., Niezgodą J., Chotkiewicz M., Dekowska A., Rzoska S.J. (2013.): Factors influencing the inactivation of Alicyclobacillus acidoterrestris spores exposed to high hydrostatic pressure in apple juice. *International Journal of High Pressure Research*, **33**, 73–82.
42. Sokołowska, B., Skąpska, S., Niezgodą, J., Rutkowska, M., Dekowska, A., Rzoska, S.J. (2014.): Inactivation and sublethal injury of Escherichia coli and Listeria innocua by high hydrostatic pressure in model suspensions and beetroot juice. *International Journal of High Pressure Research*, **34**, 147–155.
43. Tahiri I., Makhoulouf J., Paquin P., Fliss I. (2006.): Inactivation of food spoilage bacteria and Escherichia coli O157:H7 in phosphate buffer and orange juice using dynamic high pressure. *Food Research International – Journals*, **39**, 98–105.
44. Terefe N. S., Buckow R. (2017.): High Pressure Processing of Fruit and Vegetable Products, CRC Press, New York, 39-62.
45. Terefe, N. S., Matthies K., Simons L., Versteeg C. (2009): Combined highpressure-mild temperature processing for optimal retention of physical and nutritional quality of strawberries (Fragaria×ananassa). *Journal of Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **10**, 297-307.
46. Tomas-Barberan F. A., Espin J. C. (2001.): Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **81**, 853–876.
47. Tribst, A.A., Souza, S.A.A., Massaguer, P.R. (2009.): Microbiological quality and safety of fruit juices-past, present and future perspectives. *Critical Reviews in Microbiology*, **35**, 310–319.
48. Vamos-Vigyazo, L. (1981.): Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **15**, 49–127
49. Van Den Broeck I., Weemaes C., Ludikhuyze L., Van Loey A. and Hendrickx M. (1998.): Kinetics of isobaric-isothermal degradation of L-ascorbic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**, 2001-2006.

50. Vervoort L., Van der Plancken I., Grauwet T., Timmermans R. A. H., Mastwijk H. C., Matser A. M., Hendrickx M. E., Van Loey A. (2011.): Comparing equivalent thermal, high pressure and pulsed electric field processes for mild pasteurization of orange juice: Part II: Impact on specific chemical and biochemical quality parameters. *Journal of Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **12**, 466–477.
51. Von Elbe J. H. (1986.): Chemical changes in plant and animal pigments during food processing. *Journal of texture studies*, 41–64.
52. Varela-Santos, E., Ochoa-Martinez, A., Tabilo- Munizaga, G., Reyes, J.E., Pérez Won, M., Briones-Labarca, V., & Morales-Castro, J. (2012.): Effect of high hydrostatic pressure (HHP) processing on physicochemical properties, bioactive compounds and shelflife of pomegranate juice. *Journal of Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **13**, 13- 22.
53. Yang B., Shi Y., Xia X., Xi M., Wang X., Ji B., Meng J. (2012.): Inactivation of foodborne pathogens in raw milk using high hydrostatic pressure. *Food Control - Journals*, **28**, 273–278.
54. Yemenicioglu A., Ozkan M., Cemeroglu B. (1997. ): Heat inactivation kinetics of apple polyphenoloxidase and activation of its latent form. *Journal of Food Science*, **62**, 508–510.