

PREGLEDNI RAD / REVIEW

Visoki hidrostatski tlak: inovativna tehnologija u obradi prehrambenih proizvoda

High Hydrostatic pressure: Innovative technology in food processing

Marko Škegro*, Sven Karlović, Filip Dujmić, Marko Marelja, Mladen Brnčić, Tomislav Bosiljkov, Damir Ježek

Prehrambeno biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Pierottijeva 6, Zagreb, Hrvatska

*Corresponding author: mskegro@pbf.hr

Sažetak

Proces obrade visokim hidrostatskim tlakom, kao netoplinski proces, se koristi za inaktivaciju mikroorganizama uz minimalnu preinaku same namirnice. Postiže se jednaki standard sigurnosti hrane kao kod toplinske pasterizacije te se zadovoljavaju zahtjevi potrošača za svježim i minimalno procesiranim proizvodima uz kraće vrijeme obrade za razliku od konvencionalnih tehnika. U novijim istraživanjima, visoki tlak se smatra zaslužnim za promjene u strukturi stanice i biopolimera u stanicama obrađivanih namirnica što rezultira boljem vezivanju vode, procesima želiranja te nastanku novih tekstura i proizvoda. Ovaj rad prezentira upotrebu visokog hidrostatskog tlaka kod procesiranja crvenog mesa i mesnih prerađevina, voća i povrća te utjecaj na mikroorganizme u namirnici. Uz pasterizaciju, proces se koristi i za ekstrakciju bioaktivnih tvari iz sirovina, uz značajno bolje prinose i kvalitetu u usporedbi s konvencionalnim metodama ekstrakcije.

Ključne riječi: visoki hidrostatski tlak, netermalna pasterizacija, mikrobiološka sigurnost

Abstract

High hydrostatic pressure processing, as a non-thermal process, is used for inactivation of microorganisms with minimum conversion of the food itself. An equivalent standard of food safety is achieved as for heat pasteurisation and meet consumer requirements for fresh and minimum processed products with shorter processing time unlike conventional techniques. In recent studies, high pressure is considered to be responsible for changes in cell structure and biopolymers in processed foodstuffs, resulting in better water bindings, gelling processes and the emergence of new textures and products. This paper presents the use of high hydrostatic pressure in the processing of red meat and meat products, fruits and vegetables and the influence on microorganisms in food. Besides pasteurisation, process is also used for the extraction of bioactive compounds, with significantly higher yields and quality compared to conventional extraction methods.

Keywords: high hydrostatic pressure, non-thermal pasteurisation, microbial safety

Uvod

Tehnologije za preradu i konzerviranje hrane moraju pokušati zadržati svježe karakteristike uz održavanje prihvatljivog roka trajanja kao i osigurati sigurnost i nutritivnu vrijednost. Tehnologije obrade uključuju širok raspon metoda za poboljšanje kvalitete i stabilnosti, očuvanje i minimaliziranje promjena svježih svojstava namirnice te inaktivaciju mikroorganizama.

Primjena tehnologije visokog hidrostatskog tlaka sve je veća u prehrambenoj industriji u svim fazama proizvodnje, zbog potencijala produženja roka trajanja bez upotrebe kemijskih konzervansa i visoke toplinske obrade koja sve češće narušava kvalitetu proizvoda. Uz to što produljuje trajnost, osigurava i visoku sigurnost hrane koja se tretira te ne mijenja njen prirodni i svježiji okus i konzistenciju. Posebno je bitna u proizvodnji hrane na bazi voća i povrća gdje služi kao zamjena za toplinsku pasterizaciju i čuva nutritivne, senzorske i organoleptičke značajke svježeg voća i povrća (Jolie i sur., 2012).

Glavne prednosti ove tehnologije su jedinstvena i trenutna raspodjela tlaka po obrađenoj namirnici bez obzira na veličinu i oblik namirnice, niži trošak rada i manja potrošnja vremena. Obrada je učinkovita pri sobnoj ili nižim temperaturama što rezultira uklanjanjem toplinskih oštećenja i bez upotrebe kemijskih konzervansa i aditiva, većim zadržavanjem prirodne teksture, izgleda, okusa i boje s obzirom na termalne tehnologije, visokim zadržavanjem hranjivih vrijednosti i svježine namirnice. Upotrebljava se na prethodno pakiranoj hrani, čime se izbjegava skupa aseptična sterilizacija te je, uz sve navedeno, pogodnija za okoliš (Rastogi, 2013.).

Uz sve širu primjenu tehnologije visokog hidrostatskog tlaka, dolazi i do sve veće potrebe za razumijevanjem temeljnih načela na kojima se zasniva rad uređaja kako bi se primijenila pravilna obrada s obzirom na dostupna znanstvena istraživanja.

Cilj rada je prikazati mogućnosti primjene visokog hidrostatskog tlaka (VHT) u prehrambenoj industriji te opisati upotrebu VHT – a prilikom procesiranja crvenog mesa i mesnih prerađevina, voća i povrća, mliječnih proizvoda te utjecaj na bioaktivne komponente i mikroorganizme u namirnicama.



Visoki hidrostatski tlak

Prehrambena industrija prilikom obrade visokim hidrostatskim tlakom koristi tlakove do 600 MPa, dok se u laboratorijskim uvjetima mogu doseći tlakovi preko 1000 MPa. Obrada visokim hidrostatskim tlakom je bazirana na dva principa, izostatsko djelovanje i Le Chatelierovo načelo. Princip izostatskog tlačenja se bazira na činjenici da tlak djeluje istovremeno i istim iznosom u svim točkama sustava pa se tretirani uzorak neće prelomiti ili oštetiti tijekom tretmana. Djelovanje ne ovisi o veličini i obliku materijala što je velika prednost s obzirom na toplinsku obradu u procesu pasteurizacije ili sterilizacije, gdje su u namirnici najviše izloženi površinski slojevi. Djelovanje visokog tlaka na namirnicu uzrokuje promjenu njenog volumena, što se objašnjava Le Chatelierovim načelom. Prema tom zakonu, kad se na neki sustav koji je u ravnoteži djeluje promjenom intenzivne veličine, sustav će nastojati tu promjenu umanjiti. Pod djelovanjem povišenog tlaka, pospješuju se one reakcije koje dovode do smanjenja volumena a mogu se odnositi na promjenu faze, promjenu konformacije molekula ili kemijsku reakciju te su sve ostale reakcije inhibirane. Povećanjem tlaka uz konstantnu temperaturu dolazi do povećavanja stupnja uređenja molekula u nekoj tvari što rezultira restrikcijom rotacijskog, vibracijskog i translacijskog gibanja (Balasubramaniam i sur., 2015). Za razliku od toplinskih obrada, visoki tlak utječe samo na nekovalentne veze (vodikove, ionske i hidrofobne veze) te ima mali utjecaj na kemijske sastojke povezane sa poželjnim nutritivnim svojstvima, kao što su okus, aroma, boja i nutritivni sadržaj pa su stoga prerađeni proizvodi vrlo slični svježim namirnicama. Još jedno važno svojstvo obrade hrane tlakom jest izotermna stlačivost koja je definirana kao relativna promjena volumena pomoću tlaka. Volumen se smanjuje u ovisnosti o materijalu koji se obrađuje od 0,1 % pri 10 MPa pa sve do 20 % pri 600 MPa. Pri tome se privremeno (za vrijeme trajanja tlačenja) mijenja pH od 0,3 do 0,5 za svakih 100 MPa, dok se samoionizacija vode ubrzava (Bosiljkov i sur., 2010; Karlović i sur., 2014).

Tipični uređaji za obradu namirnice visokim hidrostatskim tlakom se sastoje od spremnika za tretiranje, sustava za generiranje i regulaciju tlaka, sustava za kontrolu i regulaciju temperature te kontrolne jedinice. Spremnik za tretiranje jest čelični cilindar sa žičanim namotajima u kojem se nalazi dva seta brtvi od bakra i berilija (CuBe) ili sličnog materijala i setovi mjernih sondi za mjerenje tlaka, temperature, razine tekućine i ostalih procesnih parametara. U sustav za generiranje i regulaciju tlaka spadaju pumpe, ventili, hidraulički i pneumatski sustavi te intenzifikatori, uređaji koji pretvaraju hidrauličku snagu pri niskom tlaku u smanjeni volumen pri visokom tlaku. Visokotlačni cilindar je priključen na protočni uređaj za kontrolirano grijanje odnosno hlađenje pa je moguće djelovanje tlaka pri precizno zadanom temperaturom (Caner i sur., 2003). Ovisno o tome koju namjenu imaju, odnosno da li su laboratorijski ili industrijski, mogu biti šaržni ili diskontinuirani,

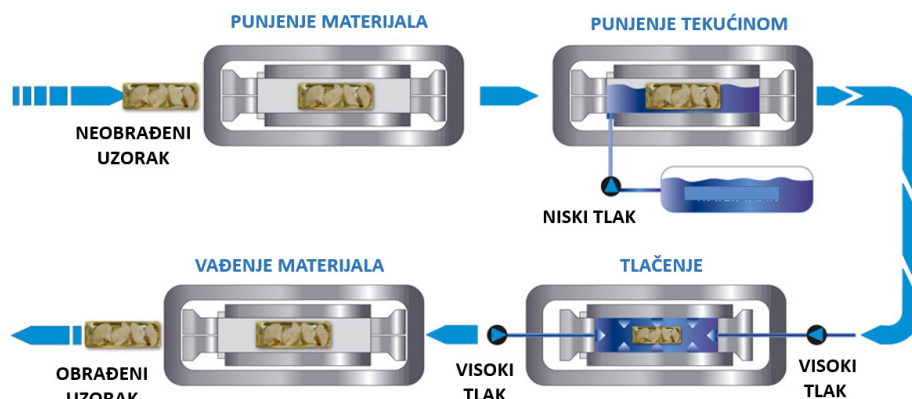
polukontinuirani i kontinuirani sustavi. Polukontinuirani sustavi se primjenjuju samo kod tekućina i polukrutih namirnica koje se mogu pumpati, kao što su voćni sokovi, pirei i slično (Martinez-Monteağudo i sur., 2016). Nakon što se zatvore cilindri, daljnjim dodavanjem tekućine dodatno se komprimira tlačni fluid do željenog tlaka. Plutajući cilindar odvaja tlačni fluid od obrađivane namirnice te se nakon primjene visokog tlaka namirnica prebacuje u drugi spremnik. U kontinuiranim sustavima, namirnica je u stalnom protoku kroz uređaj dužine od 50 do 100 m, u kojem se održava razlika tlaka između ulaza i izlaza korištenjem pumpe (van den Berg, 2001). Na Slici 1 prikazan je proces obrade visokim hidrostatskim tlakom.

Šaržni sustavi su pogodni za sve tipove namirnica, minimalan je rizik kontaminacije namirnice te se lakše čiste i pripremaju za sljedeću obradu, dok je nedostatak složenija priprema namirnice za obradu, velika pauza između dvije obrade zbog pripreme uređaja, te je točno određena ambalaža koja se smije koristiti. Prednost kontinuiranih sustava jest jednostavnija priprema namirnice, ne dolazi do gubljenja vremena na otvaranje i zatvaranje cilindra između mjerenja te je ispunjenost cilindra veća. Nedostatak je taj što se mogu obrađivati samo tekuće i polutekuće namirnice. S obzirom da u takve sustave namirnica ne ulazi u ambalaži, već se punjenje odvija nakon završetka obrade, ambalaža za prihvat namirnice mora biti aseptična, što stvara dodatnu točku gdje može doći do potencijalne kontaminacije pasteurizirane namirnice. Iz tog razloga svi dijelovi uređaja moraju biti u skladu sa posebnim oblikom čišćenja u mjestu CIP („Cleaning in place“) (Rao i sur., 2014; Martinez-Monteağudo i sur., 2016).

Procesni parametri kod obrade namirnice visokim hidrostatskim tlakom su vrijeme, tlak i temperatura. Vrijeme obrade visokim tlakom uključuje punjenje uređaja, zatvaranje uređaja, ciklus kompresije i održavanja tlaka, ciklus dekompresije i pražnjenje uređaja. Vrijeme kompresije je vrijeme potrebno za postizanje zadanog tlaka od atmosferskog dok je vrijeme dekompresije vraćanje na atmosferski tlak. Kompresija se može odvijati brzinom do 10 MPa po sekundi, dok je dekompresija gotovo trenutna. Vrijeme održavanja tlaka prikazano na Slici 2 je vrijeme od postizanja zadane vrijednosti do početka dekompresije, a ovisi o namirnici koja se obrađuje i u trajanju je od par sekundi do 30 minuta (Rao i sur., 2014; Rastogi, 2013).

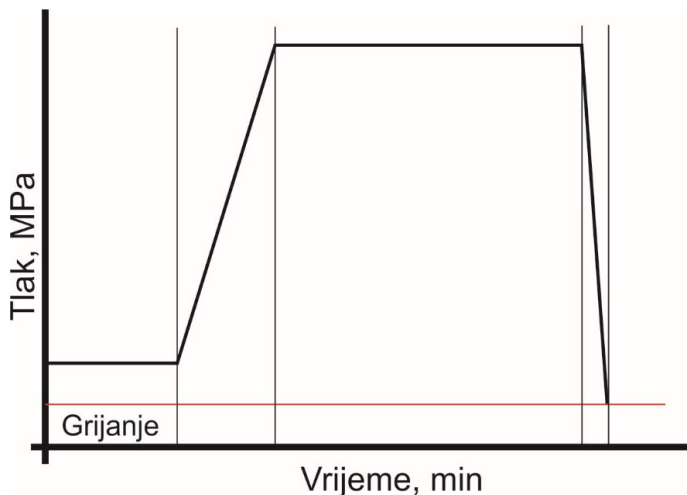
Vrijednosti tlaka ovise o prirodi namirnice koja se tretira. Obrade visokim tlakom odvijaju se pri tlakovima od 100 do 800 MPa, ali se za obradu prehrambenih namirnica najčešće koriste tlakovi od 200 do 600 MPa. Maksimalno dopušteno odstupanje tlaka tijekom vremena zadržavanja ne smije odstupati više od 5 MPa, u suprotnom potrebno je provjeriti spojna mjesta (Chung-Yi i sur., 2016).

Temperatura je bitan parametar kod obrade namirnice visokim tlakom. Razlikujemo početnu temperaturu proizvoda koja nam pokazuje temperaturu namirnice prije obrade i eventualnog temperiranja, završnu temperaturu namirnice nakon obrade i procesnu temperaturu. Procesna



Slika 1. Postupak obrade visokim hidrostatskim tlakom (prilagođeno od Hiperbaric, Španjolska)

Picture 1. High pressure processing procedure (Hiperbaric, Spain)



Slika 2. Ovisnost procesa obrade o vremenu, temperaturi i tlaku

Picture 1. Dependence of process on time, temperature and pressure

temperatura je temperatura tlačne tekućine koja može biti od $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ za zamrzavanje proizvoda do $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ za visokotlačnu sterilizaciju i inaktivaciju mikroorganizama (u tom slučaju proces se više ne smatra netoplinskim). Fluidi poput vode, zraka i matrice stanice, uz svojstvo izotermne stlačivosti imaju i svojstvo adijabatskog zagrijavanja tijekom kompresije i hlađenja tijekom dekompresije sustava. Adijabatska toplina je trenutačna volumetrijska promjena u temperaturi materijala tijekom kompresije ili dekompresije koja se javlja kao posljedica naglog povećanja ili smanjenja unutrašnje energije sustava. Povišenje temperature zbog adijabatskog zagrijavanja ovisi o početnoj temperaturi te o kemijskom sastavu namirnice koja se obrađuje (Bosiljkov i sur., 2010; Karlović i sur., 2014). Ting i sur. (2002); Knoerzer i sur., (2010); Knoerzer i Chapman (2011) su istraživali adijabatsko zagrijavanje tijekom kompresije različitih sustava hrane i došli do zaključka da je porast temperature većine namirnica sa velikim udjelom vode sličan sa porastom temperature same vode i to oko $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ po 100 MPa , dok je kod masti i ulja, zbog njihove strukture i sastava, porast temperature od $4,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ za kokošju mast, $6,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ za govedu mast, pa sve do $12,01\text{ }^{\circ}\text{C}$ za sojino ulje.

Utjecaj na bioaktivne komponente

Bioaktivne komponente iz prehrambenih namirnica biljnog podrijetla su nam zanimljive zbog njihovog značaja za ljudsko zdravlje. U bioaktivne komponente ubrajamo niz spojeva, kao što su polifenoli, karotenoidi, likopen, glukozinati, izocijanate i dr. Polifenole većemo uz smanjenje rizika bolesti krvožilnog sustava te ostalih degenerativnih bolesti zbog njihovog velikog antioksidacijskog značaja i slobodnih radikala (Barba i sur., 2014) dok su karotenoidi, kao npr. β – karoten, α – karoten i β – kriptoksantin, funkcionalni sastojci pravilne prehrane (Melendez Martinez i sur., 2003). Glukozinati i izocijanati su također značajni kako u prehrambenoj tako i u farmaceutskoj industriji zbog njihovog potencijalnog značaja za ljudsko zdravlje (Deng i sur., 2014).

Stanične membrane moraju biti denaturirane kako bi postale propusne za ekstrakciju željenih komponenti. Ekstrakcija potpomognuta visokim hidrostatskim tlakom se smatra za okoliš prihvatljivom tehnologijom. Upotreba visokog tlaka može povećati prijenos mase tako što povećava staničnu propusnost kao i difuziju sekundarnih metabolita, dok se promjene dešavaju u molekularnoj strukturi lipid – peptid kompleksa te u strukturi dvostrukih membrana fosfolipida, što olakšava ekstrakciju staničnih komponenti kao i bioaktivnih spojeva (Gonzalez i Barrett, 2010). Corrales i sur. (2008, 2009) i Barba (2015) su dokazali da ekstrakcija bioaktivnih komponenti iz namirnica biljnog podrijetla ovisi o kemijskoj strukturi komponente, metodi ekstrakcije, veličini čestica uzorka, vremenu i uvjetima skladištenja namirnice te da je potrebno

manje vremena da se bioaktivne komponente ekstrahiraju iz namirnice kod visokotlačne ekstrakcije u usporedbi sa drugim vrstama ekstrakcije.

Utjecaj na kvalitetu crvenog mesa

Jedna od najznačajnijih promjena koja se događa u mesu pri obradi visokim tlakom jest modifikacija aktin – miozin kompleksa koji je zaslužan za mišićnu kontrakciju i postmortalnu ukočenost. Dokazano je da je najviše promjena u strukturi aktin – miozin kompleksa nastalo prilikom obrade namirnice visokim tlakom od 100 do 300 MPa 5 minuta (Sun i Holley, 2010). Za razliku od temperature koja destabilizira molekulu proteina transferom nepolarnih molekula ugljikovodika iz hidrofobne jezgre prema vodi, denaturacija visokim tlakom nastaje zbog tlačenja molekula vode prema matriksu proteina, što rezultira djelomičnom razmatanju molekula, odnosno razgradnji proteina, s time da dobiveni proizvod ima boju, izgled i teksturu sličniju neobrađenom mesu (Knorr i sur., 2006; Reig i sur., 2008). Druga istraživanja su dokazala da nije došlo do većih promjena u sekundarnoj strukturi proteina pri tlakovima od 50 – 600 MPa , pri temperaturi $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ kroz 10 minuta, ali isto tako da kod tlaka od 300 MPa dolazi do promjena u hidrofobnim interakcijama između molekula što dovodi do razmatanja globularnih proteina, odnosno promjena u tercijalnoj i kvartarnoj strukturi (Chapleau i sur. 2003). Kod obrade visokim tlakom od 200 MPa na $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ kroz 20 min (Bolumar i sur., 2016) i 600 MPa kroz 6 minuta (Grossi i sur., 2012) dolazi do omeškavanja svinjskog mesa, što se pripisuje utjecaju enzima katepsina. Sanchez-Basurto i sur., (2012) su tretirali govede meso tlakom od 172 – 620 MPa na $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ kroz 1 do 5 minuta i zaključili da se boja, tekstura i mekoća obrađenog i neobrađenog mesa statistički ne razlikuju te da je visoki tlak sačuvao meso kroz duži vremenski period. San Martin (2002) je dokazao, uz preporuku daljnjih istraživanja, da obrada visokim tlakom ima drugačiji utjecaj na membranske strukture unutarmišićnog vezivnog tkiva nego starenje mesa.

Za pasterizaciju mesa i mesnih preradevina koriste se tlakovi od 400 – 600 MPa , pri sobnoj temperaturi kroz 3 do 7 minuta. U većini slučajeva, ovim tretmanom dolazi do 5 -log redukcije najčešćih vegetativnih patogena, E. coli, Listeria i Sallmonela te do uništavanja mikroorganizama što dovodi do produljenja vijeka trajanja proizvoda. Da bi se inaktivirale bakterijske spore prilikom sterilizacije potpomognute visokim tlakom, tlak mora biti veći od 700 MPa a početna temperatura veća od $80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pri tim uvjetima dolazi do smanjenog toplinskog opterećenja mesa i veće nutritivne kvalitete (Koutchma, 2014). Simon-Sarkadi i sur. (2012) su dokazali da je obrada kobasica visokim hidrostatskim tlakom (500 MPa , 10 min) poboljšala mikrobnu kvalitetu kobasica te reducirala stvaranje biogenih amina tijekom skladištenja na $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ tijekom mjesec dana.

Budući da je visokotlačna obrada mesa i mesnih preradevina isključivo šaržni proces, namirnice se uranjaju u tlačni medij u plastičnoj ambalaži pod vakuumom (Bosiljkov i sur., 2010). Postoji nekoliko razloga zašto se koristi visoki tlak u mesnoj industriji, a to su produljenje vijeka trajanja, pasterizacija, sterilizacija, smrzavanje i odmrzavanje mesa, blanširanje te razvoj novih funkcionalnih proizvoda. Korištenjem visokog tlaka za blanširanje, proizvod se ne tretira visokim temperaturama te ne dolazi do toplinskih promjena u mesu, a boja i okus ostaju nepromijenjeni. Kako bi se smanjila ukočenost mesa (rigor) i poboljšala svojstva zadržavanja vode kod sirovih materijala u proizvodnji kobasica, koriste se tlakovi od 200 do 300 MPa te dobivamo produkt pH vrijednosti od 6.2 – 6.4 , što se ne može postići na niti jedan drugi način (Koutchma, 2014). Tintchev i sur. (2013) su dokazali da je tretman visokim tlakom ($100\text{ MPa}/20\text{ }^{\circ}\text{C}/5$ min) povećao funkcionalnost proteina mesa, formirajući potrebnu strukturu kod koje ne dolazi do separacije faza, te nije potrebno dodavati fosfate kod proizvodnje kuhanih kobasica. Gradijent postizanja tlaka je analogan temperaturnom gradijentu te je kao takav veoma važan za strukturu proteina u mesnoj industriji.



Utjecaj na voće i povrće

Obrada visokim hidrostatskim tlakom rezultira dobrom očuvanošću teksture voća i povrća. Prije same obrade, mora se paziti na karakteristike uzoraka koje bi mogle umanjiti djelovanje visokog tlaka, kao što su permeabilnost stanične membrane, fleksibilnost voća i povrća pri kompresiji, geliranje škroba te promjene polimera staničnih stijenki. Tijekom obrade namirnica visokim tlakom dolazi do kompresije zraka unutar namirnice rezultirajući promjenu izgleda i teksture te se mijenja propusnost stanica, što omogućava kretanje vode, enzima i metabolita iz stanice. Stupanj loma stanice ovisi o primijenjenom tlaku i vrsti stanice (Matser i sur., 2000; Bolumar i sur., 2016). Budući da obrada visokim hidrostatskim tlakom pokazuje minimalni utjecaj na boju i okus voća i povrća, zaključujemo da će obrađena namirnica zadržati svježinu te da će se produžiti rok trajanja. Do promjene teksture voća i povrća dolazi zbog transformacija polimera staničnih stijenki uslijed enzimskih i neenzimskih reakcija (Sila i sur., 2008).

Klasični primjer pozitivne primjene visokog hidrostatskog tlaka na proizvode na bazi voća i povrća jest primjer guakamole i avokado pirea. Svježe pripremljeni pire avokada jest svijetlo zelene boje i svježeg okusa, ali zbog prisutnosti enzima (najviše zbog polifenol – oksidaze) boja mu se već nakon par sati mijenja u tamno zelenu. Obrada visokim hidrostatskim tlakom inaktivira enzime i mikroorganizme pri sobnoj temperaturi pa ne dolazi do promjene boje, nestanka svježeg okusa proizvoda te se trajnost povećava i do 6 tjedana ako se skladišti u hladnim uvjetima dok termalna obrada rezultira stvaranju oporog osjeta i gorkog zaostalog okusa u ustima (Matser i Timmermans, 2016).

Obrada visokim hidrostatskim tlakom pri sobnoj temperaturi nema značajan utjecaj na sadržaj vitamina u voću i povrću. Askorbinska kiselina je relativno stabilan vitamin pri sobnoj temperaturi, dok pri višim temperaturama značajno degradira. O stabilnosti ovisi i koncentracija kisika u proizvodu, pa se degradacija može umanjiti eliminacijom kisika pri obradi. Također, vitamini topivi u vodi, kao što su B1, B2, B6, niacin i vitamini B9 kompleksa, su stabilniji prilikom obrade visokim hidrostatskim tlakom nego pri obradi termalnim tehnologijama (Oey i sur., 2008) dok vitamini topivi u mastima (A, D, E, K) bolje podnose pasterizaciju, pa čak i sterilizaciju visokim tlakom nego konvencionalnu obradu (van der Plancken i sur., 2012). Obradom visokim hidrostatskim tlakom dolazi do inaktivacije bakterija roda *E. coli*, *Salmonella* i *L. Monocytogenes* kod proizvoda na bazi voća i povrća. Pri kontroliranoj temperaturi i pH-u, prilikom obrade i skladištenja, ne dolazi do značajnije promjene boje i smanjenja svježine takvih proizvoda. Obrada visokim tlakom između 400 i 600 MPa od 1 do 10 minuta smanjuje koncentraciju neželjenih organizama i patogena kao što su *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria* i *Cryptosporidium* do 5 log redukcije, što je dovoljno za ispunjenje strogih uvjeta Američke agencije za hranu i lijekove, FDA („Food and Drug Association“) (Koutchma, 2014). Hao i sur. (2016) su objavili značajnu degradaciju patulina u voćnim i povrtnim sokovima. Pronašli su 62 ppb smanjenje u koncentraciji patulina u soku, nakon obrade visokim tlakom od 600 MPa, 300 sekundi na 11 °C te zaključili da o stupnju degradacije patulina, osim tlaka i vremena obrade, ovisi i vrsta i sastav soka.

Juarez-Enriquez i sur. (2014) su evaluirali rok trajanja soka od jabuke sorte „Zlatni delišes“ obrađenog visokim hidrostatskim tlakom (430 MPa, sobna temperatura, 7 min) određivanjem pH, boje, antioksidativnog kapaciteta, sadržaja ukupnih fenola i askorbinske kiseline, aktivnosti polifenol oksidaze i pektinmetil esteraze te senzorskim analizama. Sok je nakon obrade skladišten 34 dana pri sobnoj temperaturi i u hladnjaku na 4 °C. Kod oba tipa skladištenja nije došlo do većih promjena u fizikalno kemijskim značajkama soka te nutritivnim i senzorskim vrijednostima, dok je aktivnost polifenol oksidaze počela rasti za vrijeme skladištenja, ne utječući na boju proizvoda. Pektinmetil esteraza je u potpunosti bila inaktivirana nakon obrade visokim tlakom kao i prirodne mikrobiote koje nalazimo u neobrađenom soku te je zadržana fizikalno kemijska i senzorska kvaliteta soka od jabuke kao i sadržaj polifenola i antioksidansa. Buckow i sur. (2009) su dokazali da pri tlaku većem od 300 MPa dolazi

do inaktivacije polifenol oksidaze kod gustog soka od jabuke dok su Perera i sur. (2010) obrađivali kockice jabuka sorte „Granny Smith“ i „Pink Lady“ u soku od ananasa visokim tlakom (600 MPa) te su ih skladištili na temperaturi 4 °C kroz 4 tjedna. Nije došlo do vizualne promjene boje ni do promjene aktivnosti pektinmetil esteraze, dok se aktivnost polifenol oksidaze značajno smanjila. Labarca i sur. (2011) su dokazali da obrada visokim tlakom (500 MPa) poboljšava dostupnost antioksidansa i minerala u soku od jabuke. Kim i sur. (2012) su pri istom tlaku od 500 MPa, 25 °C, 3 minute demonstrirali da ne dolazi do značajnije promjene u sastavu vitamina C u soku od jabuke, dok je sadržaj polifenola povećan. Proizvod je bio mikrobiološki siguran bez fizikalno kemijskih promjena, kroz 21 dan pri skladištenju na 4 °C. Landl i sur. (2010) su dokazali da kod pirea od jabuke, pri obradi tlakom od 400 MPa, nema značajnije promjene u koncentraciji vitamina C i ukupnih fenola pri trojednom skladištenju na 5 °C, ali dolazi do smanjenja ukupne koncentracije fenola prilikom obrade na 600 MPa kao i kod termalne pasterizacije (75 °C, 10 min). Također su dokazali da je broj mikroorganizama pao ispod razine detekcije te se za vrijeme skladištenja nije povećavao. Vercammen i sur. (2012) su obrađivali kockice jabuka u zakiseljenoj glukoznoj otopini visokim hidrostatskim tlakom od 200 do 650 MPa. Rezultat istraživanja je 6 log redukcija *Candida lipolytica* i *E. coli* pri tlakovima od 400 i 600 MPa. Mikrobiološki rok trajanja je produžen sa 15 na 90 dana u hladnjaku na 7 °C. Porebska i sur. (2017) su koristili visoki hidrostatski tlak (300 MPa, 50 °C, 15 min) kako bi pasterizirali sok od jabuke cijepljen sa *Alicyclobacillus acidoterrestris*. Nakon obrade došlo je do inaktivacije 3,7 log spora te su time dokazali da je tretman visokim tlakom sa umjereno povišenom temperaturom korisna tehnika za inaktivaciju *A. Acidoterrestris* spora.

Obrada visokim tlakom utječe na alergene koje nalazimo u raznom voću i povrću. Dokazano je da se tretmanom visokim tlakom od 800 MPa, 80 °C, 10 min reduciraju ekstrahirani alergeni Mal d1 i Mal d3, tlakom od 700 MPa, 20 °C, 60 min smanji imunoreaktivnost alergena Mal d3 za 30 % (Husband i sur., 2011) te tlakom 600 MPa, pri sobnoj temperaturi, 5 min, u jabuci gubi alergen Mal d1 (Scheibenzuber, 2003).

Terefe i sur. (2010) su otkrili da jagode obrađene visokim tlakom pri 600 MPa, 60 °C, 10 min nisu nisu pokazivale značajniju redukciju u koncentraciji polifenol oksidaze, ukupnoj koncentraciji polifenola i antocijana ali je došlo do značajnije inaktivacije peroksidaza. Također, do promjene u koncentraciji askorbinske kiseline, sastava antocijana i antioksidativne aktivnosti ne dolazi nakon obrade pirea od jagoda tlakovima od 400 do 600 MPa, 10 – 30 °C, 15 min (Patras i sur., 2009a), dok se nakon obrade mutnog i bistrog soka od jagode tlakom od 600 MPa i šestomjesečnim skladištenjem na 4 °C, koncentracija askorbinske kiseline, antocijana i antioksidansa smanjila za oko 30 % (Cao i sur., 2012). Prilikom obrade jagoda tlakovima do 500 MPa ne dolazi do većih promjena u aromi, ali čim se tlak poveća na 800 MPa, nastaju novi, neželjeni spojevi arome. Budući da su porozne strukture, vrlo lako se u plastičnoj ambalaži pod vakuumom mogu pretvoriti u pire (Rastogi, 2013).

Istraživanja su dokazala produljenje roka trajanja soka od naranče i dulje zadržavanje prirodnog okusa nakon obrade namirnica visokim tlakom. Mikrobiološka kvaliteta i aktivnost pektin metil esteraze su slični kod toplinske pasterizacije i visokotlačne obrade (200 MPa, 20 °C, 30 s) (Velazquez-Estrada i sur., 2012). Teo i sur. (2001) su dokazali da obrada soka od naranče visokim tlakom (600 MPa, 2 min) smanjuje mikrobiološku koncentraciju *E. coli* za 5,4 log CFU/mL dok koncentraciju *S. Enteritidis* nisu niti detektirali nakon obrade. Bull i sur. (2004) su dokazali da se obradom visokim hidrostatskim tlakom reducira broj mikroorganizama na minimalnu dopuštenu razinu odmah nakon procesiranja sokova od naranče sorte „Navel“ i „Valencia“. Skladištenje sokova od naranče na 4 °C (pH = 3,55) zadržalo je mikrobiološku koncentraciju ispod 2 log CFU po mililitru do 12 tjedana nakon obrade. Ukupna populacija aerobnih mikroorganizama obrađenog soka od naranče (600 MPa, 60 sekundi) se nije mijenjala kroz 30 dana skladištenja. Ovo istraživanje je pokazalo da je obrada visokim

hidrostatskim tlakom dobra tehnologija očuvanja mikrobiološkog vijeka trajanja soka od naranče, od 9 dana pa sve do dva mjeseca, pri 4 °C, održavajući svjež karakter soka. (Timmermans i sur., 2011).

Sanchez – Moreno i sur. (2005) su obrađivali pire od rajčice visokim hidrostatskim tlakom (400 MPa, 15 min, 25 °C) i zaključili da dolazi do smanjenja koncentracije askorbinske kiseline dok su Patras i sur. (2009b) dokazali da se obradom pirea od rajčice pri 600 MPa, 15 min kod 25 °C zadržava 93 % askorbinske kiseline u uzorku, kao i kod termičke obrade od 2 minute pri 70 °C. Također, obrada visokim tlakom (100 – 400 MPa, 120 – 540 s) rezultirala je boljim zadržavanjem askorbinske kiseline kod povrtnih napitaka od rajčice, zelenih paprika, celera, luka, mrkve i maslinovog ulja, nego kod toplinskih obrada (90 – 98 °C, 15 i 21 s) (Barba i sur., 2010). Obradom zelene i crvene paprike babure (100 i 200 MPa, 10 i 20 min) detektirano je 15 – 20 % povećanje koncentracije askorbinske kiseline u povrću (Castro i sur., 2008) dok su istraživanja na pireu od mrkve (400/500/600 MPa, 20 °C, 15 min) i kupusu (600 MPa, 20/40 °C) dokazala da su proizvodi zadržali bolje nutritivne značajke u odnosu na toplinsku obradu (Patras i sur., 2009b; Alvarez – Jubete i sur., 2014). Obrada visokim tlakom (400 – 500 MPa, 50 °C, 10 min) je rezultirala promjenom sekundarne strukture alergena Dau c1 mrkve, ali nije došlo do redukcije alergenosti proteina, što se dokazalo alergološkim testiranjem pacijenata (Barba i sur., 2015). Teo i sur. (2001) su dokazali da obrada soka od mrkve visokim tlakom (600 MPa, 2 min) smanjuje mikrobiološku koncentraciju *S. Enteritidis* sa 8,4 log CFU/mL na 0,81 log CFU/mL, dok koncentraciju *E. coli* nisu detektirali nakon obrade.

Smoothiji su sve popularniji način konzumiranja voća i povrća i doprinose unosu bioaktivnih komponenti u organizam. Dodatkom sojinog mlijeka, dobar su izvor proteina što dodatno povećava njihov nutritivni i funkcionalni značaj u prehrani. Istraživanje je rađeno na smoothiju od soka od naranče, papaje, dinje, pirea od mrkve i sojinog mlijeka uz dodatak askorbinske kiseline, obrađenom visokim hidrostatskim tlakom pri 550 i 650 MPa, 3 minute pri 20 °C i uspoređenom sa toplinskom obradom pri 80 °C, 3 minute. Boja je degradirala tokom vremena skladištenja, kako neobrađenog proizvoda, tako i obrađenog visokim tlakom i termičkom obradom. Količina karotenoida se nije značajno promijenila termičkom obradom u usporedbi sa neobrađenim smoothijem, dok je kod smoothija tretiranim visokim tlakom, koncentracija karotenoida porasla kod 550 i 650 MPa. Ukupna količina polifenola je bila ista kod svih vrsta obrade. Rezultati sugeriraju na to da su smoothiji obrađeni visokim tlakom zadržali bolje bioaktivne i funkcionalne značajke, u usporedbi sa neobrađenim i termički obrađenim smoothijima (Andres i sur., 2016.). Hurtado i sur. (2015) su obrađivali smoothie od raznih vrsta voća (naranča, jagoda, jabuka i banana) visokim hidrostatskim tlakom (350 i 450 MPa 5 min, 600 MPa 3 min) kako bi dobili proizvod što sličniji svježem napitku. U usporedbi sa toplinskim tretmanom koji je inaktivirao oksidazu i pektinske enzime te davao okus kuhanog voća, tretman tlakom od 350 MPa je zadržao značajke svježeg voća i osigurao mikrobiološku ispravnost smoothija. Svi tlakovi su rezultirali hidrolizom saharoze, ali su i zadržali ukupnu koncentraciju fenola, flavonoida i vitamina C. Ipak, antioksidativni kapacitet i promjena vrijednosti boje, transmitancije i viskoznosti indiciraju da smoothiji obrađeni visokim tlakom imaju veću sklonost bistrenju i oksidaciji nego smoothiji obrađeni pasterizacijom.

Pasterizacija pri 70 °C minimalno 10 minuta je pokazala značajnije smanjenje u koncentraciji antioksidansa i fenola nego obrada visokim tlakom 1 – 5 minuta pri 450 i 600 MPa. Crvena boja smoothija obrađenih visokim tlakom jest porasla u usporedbi sa svježim smoothijem. Ukupna razina antioksidansa, fenola i antocijana je bila veća kod obrade tlakom od 450 MPa nego 600 MPa dok se ukupna koncentracija askorbinske kiseline smanjila kod svih smoothija (Keenan i sur., 2012).

Utjecaj na mliječne proizvode

Obrada visokim hidrostatskim tlakom (VHT – om) u ovisnosti o primijenjenom tlaku može utjecati na kazeinske micelle, pri čemu dolazi do modifikacije fizikalno-kemijskih i tehnoloških svojstava mlijeka. Dezintegracija micela dovodi do povećanja razine kazeina i kalcijevog fosfata (Law i sur., 1998.), a obrada tlakom iznad 300 MPa dovodi i do ireverzibilne denaturacije kazeina (Chawla i sur., 2011), čime se značajno skraćuje vrijeme koagulacije sirila. Istovremeno dolazi do smanjenja zamućenosti (turbidnosti) proporcionalno s povećanjem tlaka, neovisno o sadržaju globula masti (Ergin i sur., 2006). Utjecaj obrade vidljiv je i na globulama mliječne masti, dolazi do promjene u raspodjeli veličine čestica i povećanoj stabilnosti. Prema Trujillo i sur. (2002) uz inaktivaciju patogenih mikroorganizama u mlijeku na taj način minimalno procesirano mlijeko (300 do 600 MPa pri sobnoj temperaturi) zadržava organoleptička svojstva okusa i mirisa, te ne dolazi do promjena u sadržaju vitamina i minerala. Istraživanja na ljudskom mlijeku provedena od Demazeau i sur. (2018) na inaktivaciji *Staphylococcus aureus* soja koji je izuzetno otporan na visokotlačnu inaktivaciju i *Bacillus cereus* spora koje su općenito otporne na procese netoplinske i toplinske pasterizacije, pokazala su da je moguća mikrobiološka dekontaminacija za log 6 jedinica oba soja bakterija, uz zadržavanje svih glavnih sastojaka mlijeka, kao i njihove aktivnosti. Aktivnost lipaze zadržana je na 80 %, α -laktalbumina na 99 %, kazeina i lizozima na do 100 %, laktoferina na 97 % i sIgA oko 64 %. Kombinacijom visokog tlaka i blago povišene temperature do 40 oC je moguće ukloniti sve spore u 4 ciklusa obrade u trajanju od po 5 min. Obrada mliječnih proizvoda VHT-om također omogućava povoljne učinke na gotov proizvod. Kod ispitivanih jogurta sprečava se naknadno kiseljenje uz zadržavanje iste količine bakterija mliječne kiseline, čime se uz ostalo produljuje rok trajanja probiotičkim proizvodima na do 90 dana. I kod proizvodnje sireva se isto mogu iskoristiti prednosti visokotlačne obrade, s obzirom da se povećava brzina grušanja skute, kao i njen prinos. Time se ubrzava proces proizvodnje sira, uz povećanje prinosa 6 do 10 %. Na taj način proizvedeni sirevi ne pokazuju organoleptičke razlike prema proizvedenima po konvencionalnom postupku (Sakharam i sur., 2014).

Zaključci

Iako je tehnologija toplinske pasterizacije glavna tehnologija u prehrambenoj industriji, može utjecati na izgled, okus i prehrambene značajke hrane i ne nužno zadovoljiti zahtjeve potrošača za prirodnom, svježom i estetski privlačnom hranom. Visokotlačna obrada može smanjiti ili potpuno ukloniti mikroorganizme koji smanjuju kvalitetu proizvoda i ugrožavaju sigurnost i zdravlje ljudi, ali se problem virusa koji se prenose hranom treba dodatno rješavati. Funkcionalni sastojci hrane i srodni spojevi također imaju korist od obrade visokim hidrostatskim tlakom, gdje je do sad funkcionalnost tih spojeva bila ugrožena djelovanjem topline. Koncentracija vitamina, minerala i bioaktivnih komponenti kod mesa i mesnih preradevina te voća, povrća i mliječnih proizvoda nakon obrade visokim tlakom ostaje ista i lakše se ekstrahira i apsorbira u ljudskom organizmu.



Literatura

- Alvarez-Jubete L., Valverde J., Patras A., Mullen A.M., Marcos B. (2014) Assessing the impact of high-pressure processing on selected physical and biochemical attributes of white cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata alba*). *Food Bioprocess Technology*, 7 682–692.
- Andrés V., Mateo-Vivaracho L., Guillamon E., Villanueva M.J., Tenorio M.D. (2016) High hydrostatic pressure treatment and storage of soy-smoothies: colour, bioactive compounds and antioxidant capacity, *LWT - Food Science and Technology*, doi: 10.1016/j.lwt.2016.01.033.
- Balasubramaniam V.M., Martínez-Montegudo S.I., Gupta R. (2015) Principles and application of high pressure-based technologies in the food industry. *Annual Review of Food Science and Technology*, 6 435–462.
- Barba F.J., Esteve M.J., Frigola A. (2010) Ascorbic acid is the only bioactive that is better preserved by high hydrostatic pressure than by thermal treatment of a vegetable beverage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58 10070–10075.
- Barba F.J., Esteve M.J., Frigola A. (2014) Bioactive components from leaf vegetable products. *Studies in Natural Products Chemistry*, 41 321–346.
- Barba F.J., Terefe N.S., Buckow R., Knorr D., Orlien V. (2015) New Opportunities and Perspectives of High Pressure Treatment to Improve Health and Safety Attributes of Foods, *Food Research International*, DOI:10.1016/j.foodres.2015.05.015.
- Bolumar T., Middendorf D., Toepfl S., Heinz V. (2016) Structural Changes in Foods Caused by High-Pressure Processing. U: Balasubramaniam, V.M., Barbosa-Cánovas, G.V., Lelieveld, H.L.M. (ed): *High Pressure Processing of Food: Principles, Technology and Applications*, pp. 509–537. Springer, NY, USA. DOI:10.1007/978-1-4939-3234-4_23.
- Bosiljkov T., Tripalo B., Ježek D., Brnčić M., Karlović S. (2010) Princip rada i primjena visokih tlakova u prehrambenoj industriji, *Kemija u industriji: časopis kemičara i tehnologa Hrvatske*, 59 11 539 – 544.
- Buckow R., Weiss U., Knorr D. (2009) Inactivation kinetics of apple polyphenol oxidase in different pressure temperature domains. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10 441–448.
- Bull M.K., Zerdin K., Howe E., Goicoechea D., Paramanandhan P., Stockman R., Sellahewa J., Szabo E.A., Johnson R.L., Steward C.M. (2004) The effect of high pressure processing on the microbial, physical and chemical properties of Valencia and Navel orange juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5 135–149.
- Caner C; Hernandez R.J., Harte B.R. (2003) High-pressure Processing Effects on the Mechanical, Barrier and Mass Transfer Properties of Food Packaging Flexible Structures: A Critical Review. *Packaging Technology and Science*, 17 23–29.
- Cao X., Bi X., Huang W., Wu J., Hu X., Liao X. (2012) Changes of quality of high hydrostatic pressure processed cloudy and clear strawberry juices during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 16 181–190.
- Castro S.M., Saraiva J.A., Lopes-Da-Silva J.A., Delgadillo I., Loey A.V., Smout C., Hendrickx M. (2008) Effect of thermal blanching and of high pressure treatments on sweet green and red bell pepper fruits (*Capsicum annuum* L.). *Food Chemistry*, 107 1436–1449.
- Chapleau N., Mangavel C., Compoin J.P., Lamballerie-Anton M. (2003) Effect of high-pressure processing on myofibrillar protein structure. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84 66–74.
- Chawla R., Girdhari R.P., Ashish K.S. (2011) High hydrostatic pressure technology in dairy processing: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 48 (3) 260 – 268.
- Chung-Yi W., Hsiao-Wen H., Chiao-Ping H., Binghui B.Y. (2016) Recent Advances in Food Processing Using High Hydrostatic Pressure Technology, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56 (4) 527–540.
- Corrales M., Garcia A. F., Butz P., Tauscher B. (2009) Extraction of anthocyanins from grape skins assisted by high hydrostatic pressure. *Journal of Food Engineering*, 90 (4) 415–421.
- Corrales M., Toepfl S., Butz P., Knorr D., Tauscher B. (2008) Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9 (1) 85–91.
- Demazeau G., Plumecocq A., Lehours P., Martin P., Couëdelo L., Billeaud C. (2018) A New High Hydrostatic Pressure Process to Assure the Microbial Safety of Human Milk While Preserving the Biological Activity of Its Main Components. *Frontiers in Public Health*, 6 306.
- Deng Q., Zinoviadou K.G., Galanakis C.M., Orlien V., Grimi N., Vorobiev E., Lebovka N., Barba F.J. (2014) The effects of conventional and nonconventional processing on glucosinolates and its derived forms, isothiocyanates: Extraction, degradation, and applications. *Food Engineering Reviews*, 1–25 DOI: 10.1007/s12393-014-9104-9.
- Ergin M.A., Hami A., Yasar K.E., Faruk B. (2006) Effect of high hydrostatic pressure on physicochemical and biochemical properties of milk. *European Food Research and Technology*, 222 392 – 396.
- 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. *Journal of Food Science*, 75 (7) 121–130.
- Grossi A., Søltøft-Jensen J., Knudsen J.C., Christensen M., Orlien V. (2012) Reduction of salt in pork sausages by the addition of carrot fibre or potato starch and high pressure treatment. *Meat Science*, 92 (4) 481–489.
- Hao H., Zhou T., Koutchma T., Wu F., Warriner K. (2016) High hydrostatic pressure assisted degradation of patulin in fruit and vegetable juice blends. *Food Control*, 62 (Suppl. C) 237–242.
- Hurtado A., Picouet P., Jofre A., Guardia M.D., Ros J.M., Banon S. (2015) Application of High Pressure Processing for Obtaining „Fresh-Like“ Fruit Smoothies. *Food Bioprocess Technology*, 8 2470–2482.
- Husband F.A., Aldick T., der Plancken I., Grauwet T., Hendrickx M., Skypala I., Mackie A.R. (2011) High-pressure treatment reduces the immunoreactivity of the major allergens in apple and celeriac. *Molecular Nutrition and Food Research*, 55 (7) 1087–1095.
- Jolie R.P., Christiaens S., de Roeck A., Fraeye I., Houben K., van Buggenhout S., van Loey A.M., Hendrickx M.E. (2012) Pectin conversions under high pressure: implications for the structure-related quality characteristics of plant-based foods. *Trends in Food Science & Technology*, 24 103–118.
- Juarez-Enriquez E., Salmeron-Ochoa I., Gutierrez-Mendez N., Ramaswamy H. S., Ortega-Rivas E. (2015) Shelf life studies on apple juice pasteurised by ultrahigh hydrostatic pressure. *LWT - Food Science and Technology*, 62 (1) 915–919.
- Karlović S., Bosiljkov T., Ježek D., Brnčić M., Tripalo B., Dujmić F. (2014) Textural Properties of High Hydrostatic Pressure Processed Vegetable Based Products. U: *International Food Congress Novel Approaches in Food Industry*, Abstract Book. Kusadasi, Turska.
- Keenan D.F., Roszle C., Gormley R., Butler F., Brunton N.P. (2012) Effect of high hydrostatic pressure and thermal processing on the nutritional quality and enzyme activity of fruit smoothies. *Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie*, 45 50–57.
- Kim H.K., Kang H.L., Sena L., Byung Y.K., Young T.H., Hyung Y.C., Jeung Y.L. (2012) Effect of high hydrostatic pressure on immunomodulatory activity of cloudy apple juice. *Food Science and Biotechnology*, 21 175–181.

- Knoerzer K., Buckow R., Versteeg C. (2010) Adiabatic compression heating coefficients for high-pressure processing—a study of some insulating polymer materials. *Journal of Food Engineering*, 98 110–19.
- Knoerzer K., Chapman B. (2011) Effect of material properties and processing conditions on the prediction accuracy of a CFD model for simulating high pressure thermal (HPT) processing. *Journal of Food Engineering*, 104 404–13.
- Knorr D., Heinz V., Buckow R. (2006) High pressure application for food biopolymers. *BiochimBiophys Acta Proteins Proteomics*, 1764 (3) 619–63.
- Koutchma T. (2014) *Adapting High Hydrostatic Pressure (HPP) for Food Processing Operations*, Elsevier, London, UK.
- Labarca B.V., Venegas C.G., Ortiz P.S., Chacana O.M., Maureira H. (2011) Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on bioaccessibility, as well as antioxidant activity, mineral and starch contents in Granny Smith apple. *Food Chemistry*, 128 520–529.
- Landl A., Abadias M., Sarraga C., Vinas I., Picouet P.A. (2010) Effect of high pressure processing on the quality of acidified Granny Smith apple puree product. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11 557–564.
- Law A.J.R., Leaver J., Felipe X., Ferragut V., Pla R., Guamis B. (1998) Comparison of the effects of high pressure and thermal treatments on the casein micelles in goats milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 2523-2530.
- Martinez-Monteaugado S.I., Balasubramaniam V.M. (2016) *Fundamentals and Applications of High-pressure Processing Technology*. In: *High Pressure Processing of Food-Principles, Technology and Application*, Balasubramaniam, V.M., Barbosa-Canovas, G.V., Lelieveld, H (ed.), New York, USA: Springer LLC, pp. 3-17.
- Matser A.M., Knott E.R., Teunissen P.G.M., Bartels P.V. (2000) Effects of high isostatic pressure on mushrooms. *Journal of Food Engineering*, 45 11–16.
- Matser A.M., Timmermans R. (2016) *High-Pressure Effects on Fruits and Vegetables*. U: Balasubramaniam, V.M., Barbosa-Cánovas, G.V., Lelieveld, H.L.M. (ed): *High Pressure Processing of Food: Principles, Technology and Applications*, str. 541-551. Springer, NY, USA.
- Melendez-Martinez A.J., Vicario I.M., Heredia F.J. (2003) A routine high-performance liquid chromatography method for carotenoid determination in ultrafrozen orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (15) 4219–4224.
- Oey I., Lille M., Van Loey A., Hendrickx M. (2008) Effect of high-pressure processing on colour, texture and flavour of fruit- and vegetable-based products: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 19 320–328.
- Patras A., Brunton N.P., Pieve S.D., Butler F. (2009a) Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and color of strawberry and blackberry purees. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10 308–313.
- Patras A., Brunton N.P., Pieve S.D., Butler F., Downey G. (2009b) Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purées. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10 (1) 16–22.
- 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. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11 39–46.
- Porębska I., Sokołowska B., Skąpska S., Rzoska S.J. (2017) Treatment with high hydrostatic pressure and supercritical carbon dioxide to control *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in apple juice. *Food Control*, 73 (Part A) 24-30.
- Rao P.S., Chakraborty S., Kaushik N., Kaur B.P., Swami-Hulle N.R. (2014) *High Hydrostatic Pressure Processing of Food Materials*. In: *Introduction to Advanced Food Process Engineering*, J. K. Sahu (ed.), London: CRC Press, UK, pp. 151-186.
- Rastogi N.K. (2013) *Recent Developments in High Pressure Processing of Foods*, Springer, Briefs in Food, Health, and Nutrition, DOI 10.1007/978-1-4614-7055-7_1.
- Reig M., Lillford P., Toldra F. (2008) *Food Materials Science: Principles and Practice*; Chapter 21: Structure meat products, pp. 501-522.
- Sakharam P., Prajapati J.P. (2014) High Hydrostatic Pressure treatment for Dairy Applications. National Seminar on „Indian Dairy Industry – Opportunities and Challenges“.
- San Martín M.F., Barbosa-Cánovas G.V., Swanson B.G. (2002): *Food Processing by High Hydrostatic Pressure*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42 (6) 627-645.
- Sánchez-Basurto B.E., Ramírez-Gilly M., Tecante A., Severiano-Pérez P., Wachter C., Valdivia-López M.A. (2012) Effect of high hydrostatic pressure treatment on the preservation of beef meat. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 51 5932–5938.
- Sanchez-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.
- Scheibenzuber M. (2003) *Molekulare und klinische Auswirkungen einer Hochdruckbehandlung allergener Lebensmittel*. PhD thesis. TU Muenchen.
- Sila D.N., Duvetter T., De Roeck A., Verlenta I., Smout C., Moates G.H., Hills B.P., Waldron K.K., Hendrickx M., Van Loey A. (2008) Texture changes of processed fruits and vegetables: potential use of high-pressure processing. *Trends in Food Science & Technology*, 19 309–319.
- Simon-Sarkadi L., Pásztor-Huszár K., Dalmadi I., Kiskó G. (2012) Effect of high hydrostatic pressure processing on biogenic amine content of sausage during storage. *Food Research International*, 47 380–384.
- Sun X.D., Holley R.A. (2010) High hydrostatic pressure effects on the texture of meat and meatproducts. *Journal of Food Science*, 75 R17–R23.
- Teo A.Y., Ravishankar S., Sizer C.E. (2001) Effect of low temperature, high pressure treatment on the survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in unpasteurized fruit juices. *Journal of Food Protection*, 64 (8) 112-1127.
- Terefe N.S., Ya H.Y., Knoerzer K., Buckow R., Versteeg C. (2010) High pressure and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in strawberry puree. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11 52–60.
- Timmermans R.A.H., Mastwijk H.C., Knol J.J., Quataert M.C.J., Vervoort L., Van der Plancken I., Hendrickx M.E., Matser A.M. (2011) Comparing equivalent thermal, high pressure and pulsed electric field processes for mild pasteurization of orange juice. Part I: Impact on overall quality attributes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12 (3) 235-243.
- Tintchev F., Bindrich U., Toepfl S., Strijowski U., Heinz V., Knorr D. (2013) High hydrostatic pressure/temperature modeling of frankfurter batters. *Meat Science*, 94 (3) 376-387.
- Ting E., Balasubramaniam V.M., Raghubeer E. (2002) Determining thermal effects in high pressure processing, *Journal of Food Technology*, 56 31–35.
- Trujillo A.J., Capellas M., Saldo J., Gervilla, R., Guamis B. (2002) Applications of high-hydrostatic pressure on milk and dairy products: a review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3 295 – 307.
- Van den Berg R.W., Hoogland H., Lelieveld H.L.M., Van Schepdael L. (2001) *High Pressure Equipment Designs for Food Processing Applications*. In: Hendrickx M.E.G., Knorr D., Ludikhuyze L., Van Loey A., Heinz V. (eds) *Ultra High Pressure Treatments of Foods*. Food Engineering Series.



Springer, Boston, MA.

Van der Plancken I., Verbeyst L., De Vleeschouwer K., Grauwet T., Heino R., Husband F.A., Lille M., Mackie A.R., Van Loey A., Viljanen K., Hendrickx M. (2012) (Bio)chemical reactions during high pressure/high temperature processing affect safety and quality of plant-based foods. *Trends in Food Science & Technology*, 23 28–38.

Velázquez-Estrada R.M., Hernández-Herrero M.M., Guamis-López B., Roig-Sagués A.X. (2012) Impact of ultra high pressure homogenization on pectin methylesterase activity and microbial characteristics of orange juice: A comparative study against conventional heat pasteurization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 13 100–106.

Vercammen A., Vanoirbeek K.G.A., Lemmens L., Lurquin I., Hendrickx M.E.G., Michiels C.W. (2012) High pressure pasteurization of apple pieces in syrup: Microbiological shelf-life and quality evolution during refrigerated storage, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 16 259-266.