

KRYSTIAN MARSZAŁEK, ŁUKASZ WOŹNIAK, SYLWIA SKĄPSKA

## WPLYW DITLENKU WĘGLA W STANIE NADKRYTYCZNYM NA WYBRANE WYRÓŹNIKI JAKOŚCI UTRWALANEGO SOKU TRUSKAWKOWEGO

### Streszczenie

Zastosowanie ditlenku węgla pod wysokim ciśnieniem (HPCD) jest nietermiczną metodą utrwalania żywności, umożliwiającą efektywną redukcję liczby drobnoustrojów i inaktywację enzymów tkankowych przy jednoczesnym zachowaniu właściwości odżywczych i jakości sensorycznej produktu. Celem pracy było określenie wpływu parametrów procesu na jakość soku truskawkowego utrwalonego metodą HPCD. Surowcem do badań były mrożone truskawki odmiany *Senga Sengana*. Bezpośrednio po tłoczeniu sok poddawano działaniu ditlenku węgla, wykorzystując urządzenie Spe-ed SFE 4 (Applied Separations, USA) przy różnych parametrach ciśnienia (10, 30, 60 MPa), temperatury (35, 45, 65 °C) oraz czasu (10, 20, 30 min). Próbę kontrolną stanowił sok nieutrwalany. Badania wykazały, że proces prowadzony przy ciśnieniu 60 MPa pozwalał na skuteczną redukcję drobnoustrojów, nawet o ponad 3 cykle logarytmiczne. Pełną inaktywację oksydazy polifenolowej można było uzyskać w każdym z testowanych ciśnień, zaś najwyższy jej stopień (95 %) osiągano w temp. 65 °C, niezależnie od stosowanego czasu i ciśnienia. Antocyjany były dobrze zachowane, jedynie w temp. 65 °C obserwowano istotne zmniejszenie ich zawartości – o 10 %. Zmiany barwy soku wyrażone jako bezwzględna różnica barwy  $\Delta E$  były niższe od 2, co oznacza, że były one niemal niezauważalne przez niedoświadczonego obserwatora. HPCD okazało się dobrą metodą utrwalania soku truskawkowego, zapewniającą jego wysoką jakość mikrobiologiczną i fizykochemiczną.

**Słowa kluczowe:** nadkrytyczny ditlenek węgla, aktywność enzymatyczna, oksydaza polifenolowa, peroksydaza, sok truskawkowy

### Wprowadzenie

Od ponad 10 lat Polska należy do pierwszej dziesiątki krajów pod względem produkcji truskawek, a zbiory tych owoców są tu największe na świecie w przeliczeniu na

---

*Dr inż. K. Marszałek, mgr. inż. Ł. Woźniak, dr inż. S. Skąpska, Zakład Technologii Przetworów Owocowych i Warzywnych, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa. Kontakt: krystian.marszalek@ibprs.pl*

jednego mieszkańca [6, 19]. Truskawki, poza atrakcyjną barwą oraz oryginalnym smakiem i aromatem, charakteryzuje duża zawartość cennych składników biologicznie aktywnych, takich jak: antocyjany, flawonole, flawanole, kwasy fenolowe, witamina C, makro- i mikroelementy oraz wysoka pojemność przeciwutleniająca [13, 10]. Przetwórstwo truskawek jest utrudnione ze względu na małą trwałość barwników antocyjanowych odpowiadających za barwę owoców oraz wysoką aktywność enzymów tkankowych odpowiedzialnych za brązowienie enzymatyczne [6, 8, 9].

Wśród konsumentów obserwuje się coraz większą świadomość związku między odżywianiem i jakością życia, stąd zainteresowanie żywnością o niskim stopniu przetworzenia i bogatą w składniki biologicznie aktywne [3, 8]. Poza wysoką wartością żywieniową, żywność taka charakteryzuje się również cenionymi walorami sensorycznymi: barwą, smakiem i zapachem zbliżonymi do surowca świeżego. Dlatego też innowacyjne metody utrwalania żywności są przedmiotem zainteresowania naukowców i przemysłu. Duży potencjał ma w tym aspekcie użycie wysokich ciśnień hydrostatycznych (HPP) stosowanych w skali przemysłowej od przeszło dwóch dekad. W technice tej wykorzystuje się ciśnienia rzędu  $200 \div 800$  MPa, co pozwala na skuteczną inaktywację większości wegetatywnej mikroflory. Ciśnienia tego rzędu nie są jednak skuteczne w stosunku do szeregu termo- i barostabilnych enzymów, takich jak polifenoloksydazy (PPO) czy peroksydazy (POD), odpowiedzialne za niekorzystne zmiany w trakcie przechowywania utrwalanych produktów, tj. brunatnienie enzymatyczne czy pogarszanie smaku i zapachu w efekcie reakcji utleniania [9]. Prowadzone ostatnio badania wykazały, że utrwalanie żywności wysokim ciśnieniem w atmosferze ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym (HPCD), mimo stosowania znacząco (o rząd wielkości) niższego ciśnienia, jest równie skuteczne w aspekcie inaktywacji drobnoustrojów co HPP, umożliwiając jednocześnie osiągnięcie istotnie wyższego poziomu inaktywacji enzymów [1, 2, 15].

Ditlenek węgla ( $\text{CO}_2$ ) w stanie nadkrytycznym był przedmiotem badań technologii żywności już w latach 70. ubiegłego stulecia. Ze względu na niską cenę, nietoksyczność, niewielką reaktywność chemiczną i stosunkowo niskie parametry punktu krytycznego znalazł on zastosowanie podczas ekstrakcji różnych związków z żywności. Obecnie nadkrytyczny  $\text{CO}_2$  stosuje się m.in. podczas produkcji kawy bezkofeinowej, ekstrakcji aromatów chmielowych czy usuwania tłuszczu z szerokiej gamy produktów spożywczych [2, 15]. Zainteresowanie wzbudza stosowanie płynów w stanie nadkrytycznym do utrwalania żywności. Dzięki stosowaniu dość niskich temperatur metoda ta ogranicza straty substancji bioaktywnych, co jest istotne w przypadku wrażliwych składników termolabilnych, m.in. antocyjanów i witaminy C, obecnych w truskawkach. Wykazano skuteczność tej metody w redukcji liczby mikroorganizmów, również w formie spor, i inaktywacji enzymów w licznych matrycach [2]. Zmniejszaniu liczby mikroorganizmów w wyniku działania nadkrytycznego  $\text{CO}_2$  przy-

pisuje się kilka mechanizmów, m.in. inaktywację kluczowych enzymów na skutek obniżenia pH cytoplazmy, zaburzenie balansu elektrolitów w komórce oraz wymywanie składników z błon komórkowych [5].

Celem pracy była ocena zastosowania ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym do utrwalania soku truskawkowego, w tym określenie zmian podstawowych wskaźników jakości: liczby mikroorganizmów, aktywności enzymów tkankowych, zawartości antocyjanów i parametrów barwy, zachodzących pod wpływem procesu prowadzonego przy różnych parametrach czasu, temperatury i ciśnienia.

### **Materiał i metody badań**

Materiałem do badań był sok truskawkowy otrzymany w skali laboratoryjnej przez tłoczenie truskawek odmiany 'Senga Sengana'. Owoce zakupiono w firmie Ulmer Sp.j. (Stare Zadybie, Polska) ze zbiorów w czerwcu 2013 r., a następnie posortowano na sortowniku optycznym (Niagara Sortex, Bühler, Szwajcaria) pod względem wielkości (45 ÷ 55 mm) oraz barwy i zamrożono w przemysłowym tunelu fluidyzacyjnym (UniDex, Polska). Owoce przechowywano w temp. -24 °C do momentu rozpoczęcia badań. Bezpośrednio przed obróbką owoce rozmrażano w temp. 20 ± 2 °C, rozdrabniano w urządzeniu wielofunkcyjnym (CL-30, Robot Coupe, Francja) oraz poddawano działaniu preparatu pektynolitycznego (Klerzyme 150, DSM, Francja). Otrzymaną miazgę tłoczono przy użyciu hydraulicznej prasy warstwowej (Tako, Polska), a powstały sok poddawano odpowietrzaniu pod ciśnieniem 0,06 MPa w odpowietrzaczu rozpyłowym (LVE, Fryma, Szwajcaria). Bezpośrednio po odpowietrzeniu sok rozlewano do szklanych probówek, które umieszczano w komorze ciśnieniowej i utrwalano przy użyciu ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym w aparacie Spe-ed SFE 4 (Applied Separations, USA), stosując po trzy warianty temperatury (35, 45 i 65 °C), ciśnienia (10, 30 i 60 MPa) oraz czasu trwania procesu (10, 20 i 30 min). Próbkę kontrolną stanowił sok niepoddany procesowi utrwalania.

Zmiany zawartości antocyjanów podczas utrwalania oznaczano metodą HPLC według Oszmiańskiego [14]. Przed oznaczaniem próbki oczyszczano w kolumnkach Sep-Pak C<sub>18</sub> (Waters, USA). Analizy prowadzono z użyciem wysokosprawnego chromatografu cieczowego Waters 2695 z detektorem spektrofotometrycznym Waters 2996. Do rozdzielania używano kolumny Sunfire C18 5 µm × 250 mm × 4,6 mm z prekolumną w temp. 25 °C. Zastosowano układ gradientowy [14], w którym eluent A stanowił 4,5-procentowy kwas mrówkowy oraz czynnik B – acetonitryl. Wyniki rejestrowano przy λ = 520 nm, zaś monomery antocyjanów identyfikowano na podstawie porównania czasów retencji ze wzorcami i danymi literaturowymi.

Wpływ nadkrytycznego ditlenku węgla na aktywność enzymatyczną oceniano na przykładzie oksydazy polifenolowej (PPO) oraz peroksydazy (POD). Aktywność obu enzymów oznaczano metodą spektrofotometryczną [17]. W badaniach aktywności

PPO mierzono zmiany absorbancji podczas enzymatycznego utleniania katecholu do benzochinonu, a do badania zmian aktywności POD wykorzystano reakcję utleniania fenylendiaminy towarzyszącej utlenianiu nadtlenu wodoru.

Jakość mikrobiologiczną próbek określano jako ogólną liczbę drobnoustrojów mezofilnych zgodnie z normą PN-EN ISO 4833:2004+AP1:2005 [20]. Metoda ta polega na posiewie płytek z pożywką agarową metodą zalewową i inkubacji w warunkach tlenowych w temp. 30 °C przez 72 h.

W próbkach określano również barwę przy użyciu kolorymetru Konica Minolta CR-200 w kuwetach szklanych o grubości 5 mm wobec wzorca bieli. Pomiaru prowadzone były w systemie CIE L\*a\*b\* z zastosowaniem iluminantu D65. Całkowitą bezwzględną różnicę barwy próbek po procesie w stosunku do barwy próbki nieutralowanej wyrażano współczynnikiem  $\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$ .

Wszystkie analizy wykonywano dwukrotnie, a ich wyniki opracowano przy użyciu programu Statistica 10 z zastosowaniem jednoczynnikowej analizy wariancji. Ocenę istotności wpływu poszczególnych składników przeprowadzono testem Tuckeya na poziomie istotności  $p = 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

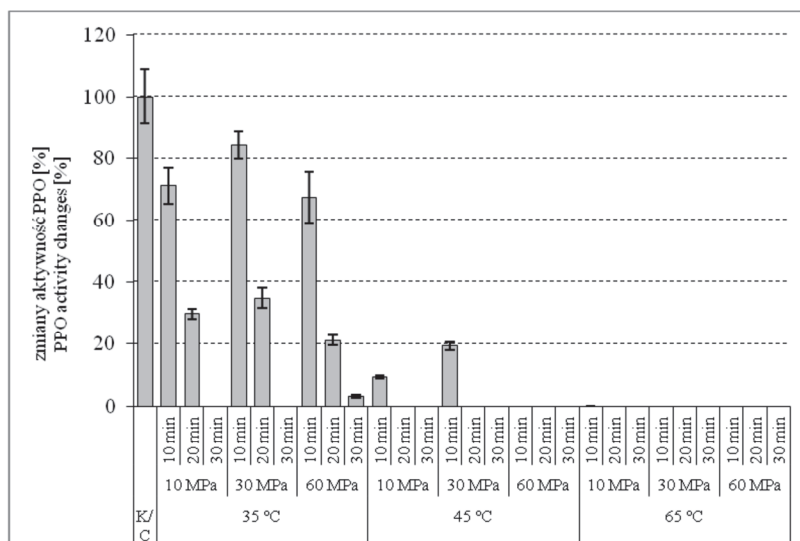
Najważniejszym kryterium oceny skuteczności stosowanej metody utrwalania żywności jest stopień redukcji mikroflory obecnej w produkcie (tab. 1). Zastosowanie niższych wartości ciśnienia (10 i 30 MPa) pozwoliło jedynie na nieznaczne zmniejszenie liczby jednostek tworzących kolonie, redukcja nie przekraczała 1,7 log. Zadowolające wyniki uzyskano dopiero po zastosowaniu najwyższego ciśnienia (60 MPa), które umożliwiło zmniejszenie liczby drobnoustrojów poniżej 10 jtk/ml (o trzy cykle logarytmiczne) po 30 min procesu, niezależnie od stosowanej temperatury. W próbce poddanej działaniu ciśnienia 60 MPa w temp. 65 °C przez 30 min uzyskano całkowitą inaktywację mikroflory mezofilnej.

Na rys. 1. i 2. przedstawiono zmiany aktywności oksydazy polifenolowej (PPO) oraz peroksydazy (POD). PPO okazała się bardziej wrażliwa na działanie ditlenku węgla – w większości testowanych parametrów nastąpiła całkowita inaktywacja tego enzymu. Skuteczny okazał się nawet proces prowadzony w najniższym stosowanym ciśnieniu i najniższej temperaturze w ciągu 30 min. Jedynie w próbkach poddawanych działaniu temp. 35 °C przez 10 lub 20 min enzym ten zachował znaczącą aktywność, a czas działania procesu wpływał statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) na obniżenie aktywności PPO. Zaobserwowano również istotnie ( $p \leq 0,05$ ) niższą aktywność badanego enzymu we wszystkich badanych próbkach względem próby kontrolnej. Aktywność peroksydazy istotnie ( $p \leq 0,05$ ) malała na skutek utrwalania, jednak w żadnym z wariantów nie uzyskano pełnej inaktywacji. Stopień inaktywacji tego enzymu w temp. 35 i 45 °C istotnie ( $p \leq 0,05$ ) zależał od czasu trwania procesu, natomiast wpływ ciśnienia

nie był jednoznaczny. Najkorzystniejsze wyniki uzyskano po zastosowaniu temp. 65 °C; soki poddane działaniu ditlenku węgla w tej temperaturze cechowała statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) niższa aktywność POD na poziomie 5 ÷ 10 % wobec próbki kontrolnej.

Tabela 1. Ogólna liczba drobnoustrojów w soku truskawkowym utrwalanym w nadkrytycznym CO<sub>2</sub>  
Table 1. Total microbial count in strawberry juice preserved using supercritical CO<sub>2</sub>

Seria nr 1 / Series 1		Seria nr 2 / Series 2	
Parametry procesu/ Process parameters	Ogólna liczba drobnoustrojów Total microbial count [jtk/ml] / [cfu/ml]	Parametry procesu/ Process parameters	Ogólna liczba drobnoustrojów Total microbial count [jtk/ml] / [cfu/ml]
10 MPa 10 min 45 °C	$9,1 \cdot 10^3$	60 MPa 10 min 65 °C	10
10 MPa 20 min 45 °C	$5,8 \cdot 10^3$	60 MPa 30 min 35 °C	4
10 MPa 30 min 45 °C	$3,5 \cdot 10^3$	60 MPa 30 min 45 °C	2
30 MPa 10 min 45 °C	$2,3 \cdot 10^2$	60 MPa 30 min 65 °C	<1
30 MPa 10 min 45 °C	$2,3 \cdot 10^2$	60 MPa 30 min 65 °C	<1

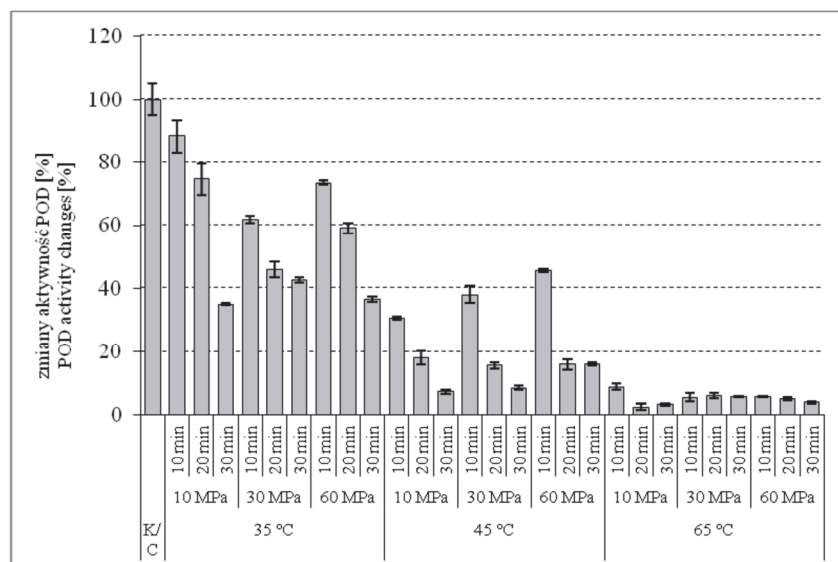


Objaśnienie: / Explanatory note:

K / C = próbka kontrolna / control sample

Rys. 1. Zmiany aktywności oksydazy polifenolowej w soku truskawkowym utrwalonym w nadkrytycznym CO<sub>2</sub>

Fig. 1. Changes in activity of polyphenol oxidase in strawberry juice preserved using supercritical CO<sub>2</sub>



Objaśnienie: / Explanatory note:

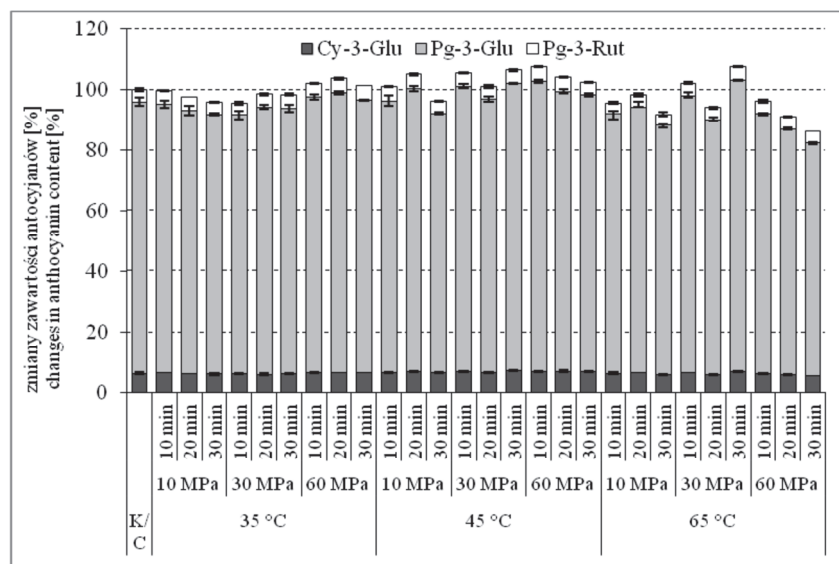
K / C = próbka kontrolna / control sample

Rys. 2. Zmiany aktywności peroksydazy w soku truskawkowym utrwalonym w nadkrytycznym CO<sub>2</sub>

Fig. 2. Changes in activity of peroxidase activity in strawberry juice preserved using supercritical CO<sub>2</sub>

Na rys. 3. przedstawiono zmiany zawartości trzech głównych monomerycznych antocyjanów występujących w truskawkach: cyjanidyno-3-*O*-glukozydu, pelargonidyno-3-*O*-glukozydu, pelargonidyno-3-*O*-rutozydu w stosunku do próby kontrolnej nieutrwalonej. W temp. 35 i 45 °C procesu nie zaobserwowano dużej degradacji barwników antocyjanowych, natomiast zastosowanie najwyższej temperatury (65 °C) spowodowało statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) największe zmniejszenie zawartości sumy trzech monomerów, nawet o 10 % w stosunku do próbki kontrolnej. Statystycznie istotnym ( $p \leq 0,05$ ) czynnikiem wpływającym na degradację antocyjanów w próbkach był również czas obróbki. Zmiany te nie były jednak istotne w takim stopniu jak temperatura procesu.

Na rys. 4. przedstawiono zmiany barwy soków utrwalonych metodą HPCD w odniesieniu do próbki kontrolnej. W niemal wszystkich próbkach różnica pomiędzy barwą soku po utrwalaniu a próbką kontrolną, wyrażona współczynnikiem  $\Delta E$ , nie przekraczała wartości 2, co oznacza, że była ona niemal niezauważalna dla niedoświadczonego obserwatora. Obserwowano wzrost badanego parametru wraz ze wzrostem ciśnienia procesu w temp. 35 i 65 °C, ale zmiany te nie zawsze były istotne statystycznie. Sok poddany utrwalaniu przez 30 min w temp. 65 °C przy ciśnieniu 60 MPa był jedynym, w którym barwa uległa statystycznie istotnej ( $p \leq 0,05$ ) zmianie ( $\Delta E > 2$ ).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

K / C = próbka kontrolna / control sample;

cy-3-glu = cyanidyno-3-*O*-glukozyd / cyanidin-3-*O*-glucoside;

pg-3-glu = pelargonidyno-3-*O*-glukozyd / pelargonidin-3-*O*-glucoside;

pg-3-rut = pelargonidyno-3-*O*-rutozyd / pelargonidin-3-*O*-rutoside.

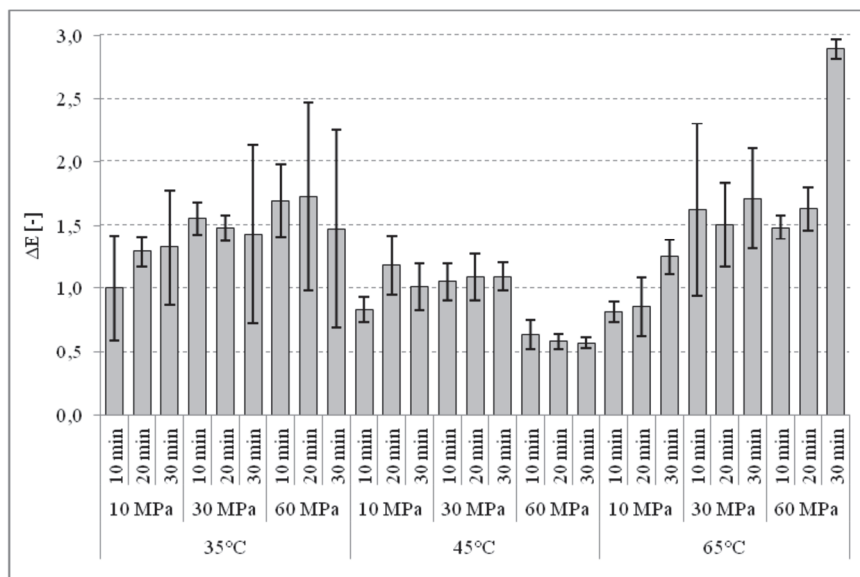
Rys. 3. Zmiany zawartości antocyjanów w soku truskawkowym utrwalonym w nadkrytycznym CO<sub>2</sub>

Fig. 3. Changes in content of anthocyanins in strawberry juice preserved using supercritical CO<sub>2</sub>

Otrzymane rezultaty są zgodne z wynikami uzyskanymi przez inne zespoły badawcze w przypadku podobnych matryc. Podczas utrwalania soku z arbuza metodą HPCD (10 ÷ 30 MPa, 50 °C, 5 ÷ 60 min) przez Liu i wsp. [6] stwierdzono częściową inaktywację PPO i POD. Aktywność enzymów wynosiła ok. 4 i 42 % odpowiednio: PPO i POD obecnych w soku z arbuza utrwalanym pod ciśnieniem 30 MPa w temp. 50 °C przez 60 min. Zaobserwowano również wyraźną zmianę barwy soku, ale zmiana ta nie korelowała z zawartością związków fenolowych, które były stabilne we wszystkich badanych parametrach procesu. W badaniach soku z kantalupy wykazano niewielkie zmiany barwy, częściową inaktywację enzymów tkankowych oraz odpowiednią jakość mikrobiologiczną przy utrwalaniu ditlenkiem węgla w 65 °C i w zakresie ciśnień 8 ÷ 35 MPa [1]. Zastosowanie CO<sub>2</sub> do utrwalenia świeżo wyciśniętego soku z czerwonych pomarańczy również dowiodło możliwości całkowitego usunięcia wegetatywnych form drobnoustrojów z soku. Otrzymano sok różniący się jednak barwą od soku surowego, mimo bardzo nieznacznego ubytku antocyjanów [4]. Podczas utrwalania soku marchwiowego metodą HPCD wykazano z kolei możliwość zmniejszenia



aktywności oksydazy polifenolowej do około 4 % początkowej wartości, przy jednoczesnym zachowaniu barwy soku [18].



Rys. 4. Zmiany barwy soku truskawkowego utrwalonego w nadkrytycznym CO<sub>2</sub>  
 Fig. 4. Changes in colour of strawberry juice due preserved using supercritical CO<sub>2</sub>

### Wnioski

1. Zastosowanie ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym przy ciśnieniu 60 MPa pozwoliło na istotną redukcję liczby drobnoustrojów mezofilnych do poziomu <10 jtk/ml w soku truskawkowym utrwalonym już w temperaturze 35 °C.
2. Ditlenek węgla w stanie nadkrytycznym okazał się skutecznym czynnikiem inaktywującym enzymy oksydoredukcyjne truskawek, odpowiadające za brązowienie produktu, zmniejszając aktywność peroksydazy do ok. 3 % oraz całkowicie inaktywując oksydazę polifenolową.
3. Niemal we wszystkich próbkach soku truskawkowego utrwalanego CO<sub>2</sub> w stanie nadkrytycznym zawartość antocyjanów pozostała na niezmiennym poziomie, zaś barwa soku nie zmieniła się w zauważalny sposób.
4. Zastosowanie CO<sub>2</sub> w stanie nadkrytycznym może być korzystną alternatywą dla tradycyjnie stosowanych termicznych metod utrwalania soku truskawkowego.

*Praca finansowana ze środków na działalność statutową IBPRS.*



### Literatura

- [1] Chen J.I., Zhang J., Song L., Jiang Y., Wu J., Hu X.S.: Changes in microorganism, enzyme, aroma of hami melon (*Cucumis melo L.*) juice treated with dense phase carbon dioxide and stored at 4 °C. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2010, **11**, 623-629.
- [2] Damar S., Balaban M.O.: Review of dense phase CO<sub>2</sub> technology: microbial and enzyme inactivation, and effects on food quality. *J. Food Sci.*, 2006, **71** (1), R1-R11.
- [3] Dłużewski M., Dłużewska A.: *Technologia żywności*. T. 2, WSiP, Warszawa 2010.
- [4] Fabroni S., Amenta M., Timpanaro N., Rapisarda P.: Supercritical carbon dioxide-treated blood orange juice as a new product in the fresh fruit market. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2010, **11**, 477-484.
- [5] Garcia-Gonzales L., Geeraerd A.H., Spilimbergo S., Elst K., van Ginneken L., Debevere J., van Impe J.F., Devlighere F.: High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: The past, the present and the future. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, **117**, 1-28.
- [6] Kalisz S., Marszałek K., Mitek M.: Badania nad wpływem dodatku preparatów pektyn wysoko metylowanych na parametry jakościowe nektarów truskawkowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **6** (67), 129-139.
- [7] Liu Y., Hu X., Zhao X., Song H.: Combined effect of high pressure carbon dioxide and mild heat treatment on overall quality parameters of watermelon juice. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2013, **13**, 112-119.
- [8] Lopez-Serrano M., Ros Barcelo A.: Histochemical localization and developmental expression of peroxidase and polyphenol oxidase in strawberries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 2001, **126** (1), 27-32.
- [9] Marszałek K., Mitek M., Skąpska S.: Zastosowanie wysokich ciśnień hydrostatycznych (UHP) do utrwalania soków i nektarów truskawkowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **1** (74), 112-123.
- [10] Marszałek K., Mitek M.: Wpływ parametrów procesu ciśnieniowania na pojemność przeciwutleniającą puree truskawkowego utrwalonego metodą UHP. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, 2012, **571**, 79-85.
- [11] Molenda J.: Wybrane niekonwencjonalne metody utrwalania żywności. *Med. Weter.*, 2007, **63** (9), 1016-1020.
- [12] Oszmiański J.: Stabilizacja i zastosowanie barwnika antocyjanowego aronii do barwienia napoi. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2002, **1** (1), 37-45.
- [13] Oszmiański J., Wojdyło A.: Zawartość związków fenolowych w produktach z truskawek oferowanych w handlu. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2008, **4**, 27-29.
- [14] Oszmiański J., Wojdyło A., Matuszewski P.: Zmiany zawartości związków fenolowych podczas produkcji zagęszczonego soku truskawkowego w warunkach przemysłowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **1** (50), 94-104.
- [15] Palmer M.V., Ting S.S.T.: Applications for supercritical fluid technology in food processing. *Food Chem.*, 1995, **52**, 345-352.
- [16] Seyderhelm I., Boguslawski S., Michaelis G., Knorr D.: Pressure induced inactivation of selected food enzymes. *J. Food Sci.*, 1996, **61**, 308-310.
- [17] Terefe N.S., Yang Y.H., Knoerzer K., Buckow R., Versteeg C.: High pressure and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in strawberry puree. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2010, **11**, 52-60.
- [18] Zhou L., Wang Y., Hu X., Wu J., Liao X.: Effect of high pressure carbon dioxide on the quality of carrot juice. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2009, **10**, 321-327.
- [19] Żurawicz E.: *Truskawka i poziomka*. Zesz. Pomol. Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa. Zakład Upowszechniania Postępu, 1994, ss. 3-24.

- [20] PN-EN ISO 4833:2004+AP1:2005. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Metoda płytkowa w temperaturze 30 °C.

### EFFECT OF SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE ON SELECTED QUALITY PARAMETERS OF PRESERVED STRAWBERRY JUICE

#### S u m m a r y

The use of high pressure carbon dioxide (HPCD) is a novel, non-thermal method of food preservation; with that method, it is possible to effectively reduce a microbial count, to inactivate tissue enzymes and, at the same time, to preserve all the nutritional values and sensory quality of a product. The objective of the research study was to determine the effect of process parameters on the quality of strawberry juice preserved using the HPCD method. The raw material analyzed were frozen strawberries of 'Senga Sengana' cultivar. Immediately after pressing, the juice was treated with supercritical carbon dioxide using a Spe-ed SFE 4 apparatus (Applied Separations, USA) at varying pressure levels (10, 30, 60 MPa), at different temperatures (35, 45, 65 °C), and for varying time durations (10, 20, 30 min). The unpreserved juice was a control sample. The analyzes showed that the application of CO<sub>2</sub> at a pressure of 60 MPa made it possible to effectively reduce, even more than by the three logarithmic cycles, the total microbial count. The polyphenol oxidase could be fully inactivated at every level of the pressures tested, and the highest level of peroxidase inactivation (95 %) was achieved at a temperature of 65 °C irrespective of the pressure and time applied. Anthocyanins were well preserved; only at a temperature of 65 °C, a significant decrease of 10% was reported. The juice colour changes, expressed as  $\Delta E$  coefficient, i.e. an absolute colour difference, were below 2, thus, they were almost unnoticeable by an inexperienced observer. HPCD turned out to be an effective method of preserving strawberry juice and its high microbial and physicochemical quality were ensured under this method.

**Key words:** supercritical carbon dioxide, enzymes activity, polyphenol oxidase, peroxidase, strawberry juice ☒