

Latvijas Lauksaimniecības universitāte
Latvia University of Life Sciences and Technologies

Pārtikas tehnoloģijas fakultāte
Faculty of Food Technology



Mg.sc.ing. Sanita Sazonova

**AUGSTSPIEDIENA APSTRĀDES IETEKME
UZ CŪKGALAS KVALITĀTI**

***EFFECT OF HIGH PRESSURE PROCESSING
ON PORK MEAT QUALITY***

Promocijas darba KOPSAVILKUMS
zinātņu doktora grāda (Ph.D.) iegūšanai
pārtikas un dzērienu tehnoloģijās

SUMMARY
of the Doctoral thesis for the scientific degree of Ph.D.

Jelgava
2020

Promocijas darba vadītājas / Scientific supervisors:
LLU profesore **Dr.sc.ing. Ruta Galoburda**,
LLU docente **Dr.sc.ing. Ilze Grāmatiņa**.

Darba recenzenti / Official reviewers:

Vadošā pētniece / *Leading researcher*, Dr.sc.ing. **Vita Šterna** – APP
Zinātniskais institūts “Agroresursu un ekonomikas institūts” / *Institute of Agricultural Resources and Economics*
Asociētā profesore / *Associated professor*, Dr.sc.ing. **Anita Blija** – Latvijas Lauksaimniecības universitāte / *Latvia University of Life Sciences and Technologies*;
Vadošais eksperts, izpilddirektors / *Leading expert, executive director*, Dr.sc.ing. **Jānis Zutis** – Latvijas Gaļas ražotāju un pārstrādātāju asociācija/ *Latvian Meat Producers' and Processors' Association*.

Promocijas darba aizstāvēšana notiks Latvijas Lauksaimniecības universitātes Pārtikas un dzērienu tehnoloģijas nozares promocijas padomes atklātajā sēdē 2020. gada 26. augustā Pārtikas tehnoloģijas fakultātes 216. auditorijā, Rīgas ielā 22, Jelgavā.

The defence of the dissertation in an open session of the Promotion Board of the Food and Beverage Technology of Latvia University of Life Sciences and Technologies will be held on August 26, 2020 in auditorium 216 at Faculty of Food Technology of Latvia University of Life Sciences and Technologies, 22 Riga Street, Jelgava.

Ar promocijas darbu un tā kopsavilkumu var iepazīties LLU Fundamentālajā bibliotēkā, Lielā ielā, 2 Jelgavā un internetā (pieejams: www.kopkatalogs.lv). Atsauksmes sūtīt Pārtikas un dzērienu tehnoloģijas nozares promocijas padomes sekretārei, profesore, Dr.sc.ing. **I. Beītānei** (Rīgas iela 22, Jelgava LV-3004, e-pats: ilze.beitane@llu.lv).

The dissertation is available at the Fundamental Library of the Latvia University of Life Sciences and Technologies, 2 Liela Street, Jelgava, and on the internet http: www.kopkatalogs.lv References should be sent to professor Dr.sc.ing. I. Beītane, the Secretary of the Promotion Board of Food and Beverage Technology at the Faculty of Food Technology, 22 Riga street, Jelgava LV-3004, Latvia or e-mail: ilze.beitane@llu.lv.

DOI: 10.22616/lluthesis/2020.003

SATURS

Pētījuma aktualitāte	4
Zinātniskā darba aprobācija	5
Materiāli un metodes	8
Pētījuma rezultāti un diskusija	13
1. Augstspiedienā apstrādātas cūkgaļas makromolekulārās struktūras FTIS spektroskopijas pētījumi	13
2. Augstspiediena apstrādes ietekme uz MAFAm skaitu cūkgaļā un to ietekmējošiem faktoriem	15
3. Augstspiediena apstrādes ietekme uz cūkgaļas fizikāli kīmiskajiem rādītājiem	16
4. Augstspiediena ietekme uz cūkgaļas masas zudumiem termiskās apstrādes laikā, gaļas sensoro un fizikālo īpašību izmaiņas	21
5. Uzglabāšanas laika salīdzinājums, cūkgaļai pievienojot mikrokapsulētu mārrutku lapu un sakņu sulu un apstrādājot augstspiedienā	25
Secinājumi	27

CONTENT

Topicality of the research	29
Approbation of the research	30
Materials and methods	31
Results and discussion	33
1. FTIR spectroscopy studies of high pressure – induced changes in pork macromolecular structure	33
2. Effect of high pressure processing on total plate count in pork and influencing factors	34
3. Effect of high pressure processing on physical and chemical attributes of raw pork meat	35
4. Effects of heat treatment on high pressure processed pork cooking loss, sensory and physical attributes	37
5. Shelf life comparison of pork meat with added microencapsulated horseradish leaf and root juice after HPP treatment	39
Conclusions	40

PĒTĪJUMA AKTUALITĀTE

Patērētāji mūsdienās arvien lielāku uzmanību pievērš informācijai par pārtikas produktu uzturvērtību un pārtikas sastāvu sarakstam, kas atrodas uz iepakojuma. Piemērot atbilstošu tehnoloģisko apstrādi, iespējams iztikt bez pārtikas piedevām, ko lieto uzglabāšanas laika pagarināšanai, vienlaicīgi saglabājot produkta uzturvērtību un sensorās īpašības, kas ir līdzīgas vai identiskas neapstrādātam, svaigam produktam (Heinz & Buckow, 2010).

Augstspiediena apstrādē (*high pressure processing - HPP*), kas pazīstama arī kā pārtikas aukstā pasterizācija, produkts netiek sildīts. Šāda veida apstrādi lieto gan šķidriem, gan cietiem produktiem, piemēram, gaļai, jūras veltēm, dzērieniem, piena produktiem, augļiem un dārzeņiem (Tonello, 2011). Patlaban HPP ir viena no veiksmīgākajām termiskās apstrādes alternatīvām pārtikas rūpniecībā. Aptuveni 26–29% no rūpnieciskajām augstspiedienas iekārtām izmanto tieši galas pārstrādē (Elamin et al., 2015; Ghalavand et al., 2015). Ar HPP tehnoloģiju lielākoties apstrādā sagrieztu vārītu gaļu, vārītus gaļas produktus, neapstrādātus liellopu gaļas produktus, kaltētus produktus, desas un gaļas pusfabrikātus, nepievienojot konservantus (Bolumar et al., 2015). Izmantojot HPP, tiek inaktivēti mikroorganismi un pagarināts uzglabāšanas laiks, vienlaicīgi saglabājot gaļas un tās produktu fizikālās ķīmiskās īpašības un kvalitāti (Balasubramaniam & Farkas, 2008; Jofré & Serra, 2016; Xu et al., 2020). Turklāt HPP piemīt liels potenciāls inovatīvu produktu attīstībā, kuru ražošanā nepieciešams relatīvi zems energijas patēriņš. Vēl pastāv iespēja apvienot HPP tehnoloģiju ar citām pārtikas apstrādes metodēm, kas veicinātu pārtikas rūpniecības attīstību (Huang et al., 2017).

HPP vairāk tiek izmantota produktiem, kam nav nepieciešama tālāka termiska apstrāde, bet salīdzinoši maz ir pieejama informācija par augstspiediena ietekmi uz svaigu gaļu, kā arī apstrādes režīniem, lai iegūtu patērētajam tīkamu gala produktu. Līdz ar to jāizpēta sīkāk gaļā notiekošie procesi dažādos augstspiediena intervālos un jānosaka optimālie apstrādes parametri, kas ļautu iegūt vēlamo efektu.

Promocijas darba **hipotēze**: izmantojot augstspiediena apstrādi, gaļas fizikālās, ķīmiskās un sensorās īpašības mainās atkarībā no apstrādes režīma.

Pētījuma hipotēze aizstāvama ar šādām **tēzēm**.

1. Augstspiediena apstrāde būtiski ietekmē cūkgalas ūdens saturēšanas spēju, krāsu un olbaltumvielu struktūru.
2. Cūkgalas pH, mitruma saturs, audu mikrostruktūra un gaļas ķīmiskais sastāvs nemainās, apstrādājot augstspiedienā.
3. Augstspiediena apstrāde ietekmē MAFAm dinamiku cūkgalā.

4. Kombinējot apstrādi augstspiedienā un termisko apstrādi, cūkgaļas sensorie un fizikālie rādītāji ir atkarīgi no apstrādes režīma.
5. Šķēršļu tehnoloģijā apvienojot augstspiediena apstrādi un mikrokapsulētas garšaugu sulas pievienošanu, iespējams pagarināt gaļas uzglabāšanas laiku.

Promocijas darba **mērķis**: izpētīt un novērtēt augstspiediena tehnoloģijas ietekmi uz cūkgaļu.

Promocijas darba **objekts**: augstspiedienā apstrādāta cūkgaļa.

Darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi **uzdevumi**:

- 1) analizēt augstspiediena apstrādes režīmu ietekmi uz cūkgaļas ķīmisko sastāvu un audu mikrostruktūru;
- 2) izvērtēt augstspiedienā apstrādātas gaļas fizikālos, ķīmiskos rādītājus un MAFAm dinamiku;
- 3) novērtēt augstspiediena apstrādes ietekmi uz cūkgaļas fizikālajiem rādītājiem termiskās apstrādes laikā;
- 4) veikt iegūto produktu sensoro novērtējumu;
- 5) izvērtēt mikrokapsulētas mārrutku sulas un augstspiediena apstrādes kombinācijas ietekmi uz cūkgaļas kvalitāti.

Promocijas darba **novitāte un zinātniskais nozīmīgums**:

- pirmo reizi Latvijā veikti pētījumi par augstspiediena ietekmi uz cūkgaļu;
- izvērtēta augstspiediena apstrādes ietekme uz gaļas fizikālajiem un ķīmiskajiem rādītājiem, sensorajām īpašībām un noteikti optimālie apstrādes režīmi;
- izvērtēta augstspiedienā apstrādātas gaļas kvalitāte uzglabāšanas laikā;
- izvērtēta mikrokapsulētas mārrutku sulas loma augstspiedienā apstrādātas cūkgaļas kvalitātes nodrošināšanā.

Promocijas darba **tautsaimnieciskā nozīme**:

- gaļa ir ātrbojīgs produkts, apstrāde augstspiedienā dod iespēju inaktivēt mikroorganismus, tādējādi pagarinot uzglabāšanas laiku bez turpmākās termiskās apstrādes;
- piemesums piedāvāto gaļas produktu klāsta papildināšanai;
- izmantojot augstspiediena apstrādi, iespējams iegūt patēriņājiem pievilcīgu minimāli apstrādātu produktu ar ilgāku uzglabāšanas laiku.

ZINĀTNISKĀ DARBA APROBĀCIJA

Pētījuma rezultāti apkopoti 6 zinātniskos rakstos, ieskaitot 5 publikācijas, kas indeksētas starptautiskās datubāzēs *SCOPUS* un *Web of Science*.

Publikācijas, kas indeksētas starptautiskajās datubāzēs SCOPUS vai Web of Science:

1. Sazonova S., Gramatina I., Klava D., Galoburda R. (2019) Effect of high pressure processing on raw pork microstructure and water holding

- capacity. *Agronomy Research*, vol. 17(S2), p. 1452–1459, <https://doi.org/10.15159/AR.19.057> (indeksēts Scopus datubāzē, žurnāla *impact factor* 0.94).
2. Sazonova S., Grube M., Shvirksts K., Galoburda R., Gramatina I. (2019) FTIR spectroscopy studies of high pressure-induced changes in pork macromolecular structure. *Journal of Molecular Structure*, Vol. 1186, p. 377–383. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.03.038> (indeksēts Web of Science, žurnāla *impact factor* 2.01; kā arī Scopus datubāzē, žurnāla *impact factor* 1.94).
 3. Sazonova S., Galoburda R., Gramatina I., Straumite E. (2018) High pressure effect on the sensory and physical attributes of pork. In: *Research for Rural Development 2018: Annual 24th International scientific conference proceedings*, Jelgava, Latvia, 16–18 May, 2018 / Latvia University of Life Sciences and Technologies. Jelgava, 2018. Vol.1, p. 227–232, DOI: 10.22616/rrd.24.2018.036. (indeksēts SCOPUS).
 4. Sazonova S., Galoburda R., Gramatina I. (2017) Effect of high pressure processing on microbial load in pork. In: *Proceedings 23rd Annual International Scientific Conference "Research for Rural Development 2017"* 17–19 May, 2017, Vol. 1, p. 237–243. <https://doi.org/10.22616/rrd.23.2017.035> (indeksēts Web of Science, SCOPUS).
 5. Sazonova S., Galoburda R., Gramatina I. (2017) Application of high-pressure processing for safety and shelf-life quality of meat – a review. In: *11th Baltic Conference on Food Science and Technology “Food science and technology in a changing world” FOODBALT 2017 Conference Proceedings*. Jelgava, LLU, p. 17–22. <https://doi.org/10.22616/foodbalt.2017.001> (indeksēts Web of Science).

Publikācijas recenzētos zinātniskos izdevumos:

Sazonova S., Galoburda R., Gramatina I. (2017) Effect of high pressure processing on raw pork colour and water holding capacity / *63rd International congress of meat science and technology “Nurturing locally, growing globally”*, Cork, Ireland, 13–18th August 2017. Wageningen, p. 610–611.

Par zinātniskā darba rezultātiem ziņots 8 starptautiskās zinātniskās konferencēs Igaunijā, Īrijā, Latvijā, Portugālē un divās izstādēs Latvijā.

1. Sazonova S., Galoburda R., Grāmatiņa I. (2019) Augstspiediena apstrādes tehnoloģijas ietekme uz cūkgāļas kvalitāti. Starptautiskajā konferencē „VMF 100 un Veterinārmedicīnas zinātnes un prakses aktualitātes 2019” / Impact of high-pressure processing on quality of pork meat. International Conference „Research and Practice in Veterinary Medicine 2019.” Jelgava, Latvija, 2019. gada 21–23. novembris, Jelgava, Latvia. Mutiskais referāts / *Oral presentation*.

2. Sazonova S., Grube M., Shvirksts K., Galoburda R., Gramatina I. (2019) FTIR high-throughput screening for assessment of the high pressure induced structural changes in pork meat juice. 18th European Conference on Spectroscopy of Biological Molecules (ECSBM), Dublin, Ireland, August 19–22, 2019. Stenda referāts / *Poster presentation*.
3. Sazonova S., Gramatina I., Klava D., Galoburda R. (2019) Effect of high pressure processing on raw pork microstructure and water holding capacity. 10th International Conference Biosystems Engineering, BSE 2019, Tartu, Estonia, May 8–10, 2019. Mutiskais referāts / *Oral presentation*.
4. Sazonova S., Shvirksts K., Grube M., Galoburda R., Gramatina I. (2018) High pressure induced changes in pork macromolecular structure. XXXIV European Congress on Molecular Spectroscopy - EUCMOS 2018, Coimbra, Portugal, August 19–24, 2018. Stenda referāts / *Poster presentation*.
5. Sazonova S., Galoburda R., Gramatina I., Straumite E. (2018) High pressure effect on the sensory and physical attributes of pork. 24th Annual International Scientific Conference "Research for Rural Development 2018," Jelgava, Latvia, May 16–18, 2018. Mutiskais referāts / *Oral presentation*.
6. Sazonova S., Galoburda R., Gramatina I. (2017) Effect of high pressure processing on raw pork colour and water holding capacity. 63rd International congress of meat science and technology “Nurturing locally, growing globally”, Cork, Ireland, August 13–18, 2017. Stenda referāts / *Poster presentation*.
7. Sazonova S., Galoburda R., Gramatina I. (2017) Effect of high pressure processing on microbial load in pork. 23rd Annual International Scientific Conference "Research for Rural Development 2017," Jelgava, Latvia, May 17–19, 2017. Mutiskais referāts / *Oral presentation*.
8. Sazonova S., Galoburda R., Gramatina I. (2017) Application of high-pressure processing for safety and shelf-life quality of meat. 11th Baltic Conference on Food Science and Technology “Food science and technology in a changing world” FOODBALT 2017, Jelgava, Latvia, April 27–28, 2017. Stenda referāts / *Poster presentation*.
9. Dalība kontaktbiržā “Zinātnieks. Uzņēmējs. Sadarbība.”, kas norisinājās pasākuma “Uzņēmēju dienas Zemgalē 2017” ietvaros / *Participation in the event “Researcher. Entrepreneur. Cooperation.” within of Zemgale's business day 2017.* Stenda eksponāti / *Stand exhibit*.
10. Dalība starptautiskajā pārtikas izstādē “Riga Food 2017”, “Augstspiediena tehnoloģiju pielietošana cūkgāļas kvalitātes uzlabošanai”. / *Participation in the international food exhibition “Riga Food 2017”, “Application of high pressure processing for pork meat quality improvement”* Mutiskais referāts / *Oral presentation*.

MATERIĀLI UN METODES

Pētījuma laiks un vieta

Zinātniskais darbs izstrādāts laika posmā no 2016. gada septembra līdz 2020. gada februārim Latvijas Lauksaimniecības universitātes Pārtikas tehnoloģijas fakultātes Studiju un zinātnes centra laboratorijās, Latvijas Universitātes Mikrobioloģijas un biotehnoloģijas institūtā, Rīgas Tehniskās universitātes Materiālzinātņu un lietišķas ķīmijas fakultātes Vispārīgās ķīmijas tehnoloģijas institūtā, "J.S. Hamilton Poland Sp. z o.o. testing laboratory" laboratorijā.

Materiālu raksturojums

Pētījuma objekts ir augstspiedienā apstrādāta cūkgala. Eksperimentos izmantoti atdzesētas gaļas paraugi, kas iegūti no cūkas garākā jostas muskuļa *Musculus longissimus lumborum* gabala. Pieņemot dzīvnieku kautuvē, nav reģistrēta to šķirne, vecums, dzimums, kā arī netiek aprakstīta tālākā to apstrādes gaita. Gaļas izcelsmes valsts Latvija. Paraugu apzīmējumi apkopoti 1. tabulā.

1. tabula / Table 1

Darbā lietotie paraugu saīsinājumi un apzīmējumi / List of samples abbreviations and nomenclature

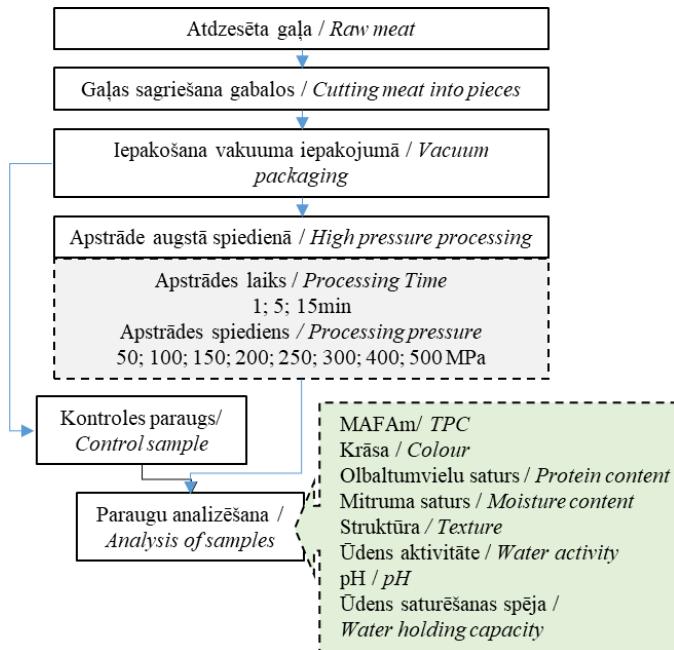
Saīsinājums / Abbreviation	Paraugu apzīmējumi / Designation of samples
K	kontroles paraugs / control sample
V	termiski apstrādāts paraugs / heat treated sample
300/1	cūkgalas paraugs, apstrādāts 300 MPa 1 min / <i>HPP treated pork sample 300 MPa 1 min</i>
300/15	cūkgalas paraugs, apstrādāts 300 MPa 15 min / <i>HPP treated pork sample 300 MPa 15 min</i>
600/1	cūkgalas paraugs, apstrādāts 600 MPa 1 min / <i>HPP treated pork sample 600 MPa 1 min</i>
600/15	cūkgalas paraugs, apstrādāts 600 MPa 15 min / <i>HPP treated pork sample 600 MPa 15 min</i>
L	cūkgalas paraugs ar pievienotu mikrokapsulētu mārrutku lapu sulu / <i>raw meat samples with microencapsulated horseradish leaf juice</i>
S	cūkgalas paraugs ar pievienotu mikrokapsulētu mārrutku sakņu sulu / <i>raw meat samples with microencapsulated horseradish root juice</i>
K-300	kontroles paraugs, apstrādāts 300 MPa 15 min / <i>control HPP treated pork sample 300 MPa 15 min</i>
L-300	cūkgalas paraugs ar pievienotu mikrokapsulētu mārrutku lapu sulu, apstrādāts 300 MPa 15 min / <i>HPP treated pork sample with microencapsulated horseradish leaf juice 300 MPa 15 min</i>
S-300	cūkgalas paraugs ar pievienotu mikrokapsulētu mārrutku sakņu sulu, apstrādāts 300 MPa 15 min / <i>HPP treated pork sample with microencapsulated horseradish root juice 300 MPa 15 min</i>

Gaļas paraugu sagatavošana augstspiediena apstrādei. Atdzesētu cūkgaļu sagriež šķēlēs perpendikulāri muskuļu šķiedrām. Šķēles sadala porcijās un iepako vakuuma maisījos, kas izgatavoti no poliamīda / polietilēna (PA / PE) plēves. Paraugs uzglabā ledusskapī 4 ± 2 °C temperatūrā līdz gaļas augstspiediena apstrādei tajā pašā dienā.

Gaļas paraugus apstrādā augstspiediena iekārtā ISO-Lab S-FL-100-250-09-W (Stansted Fluid Power Ltd., Lielbritānija), kuras spiediena kameras tilpums 2 L un maksimālais darba spiediens 900 MPa. Spiediena transmisijas līdzeklis propilēnglikola maisījums ar ūdeni (1 : 2 v / v) telpas temperatūrā. Vakuumā iepakotus paraugus apstrādā vienā no spiedieniem (no 50 līdz 600 MPa), bet neapstrādātu paraugu izmanto kā kontroli, katrā spiedienā piemēro apstrādes laiku 1, 5 un 15 minūtes.

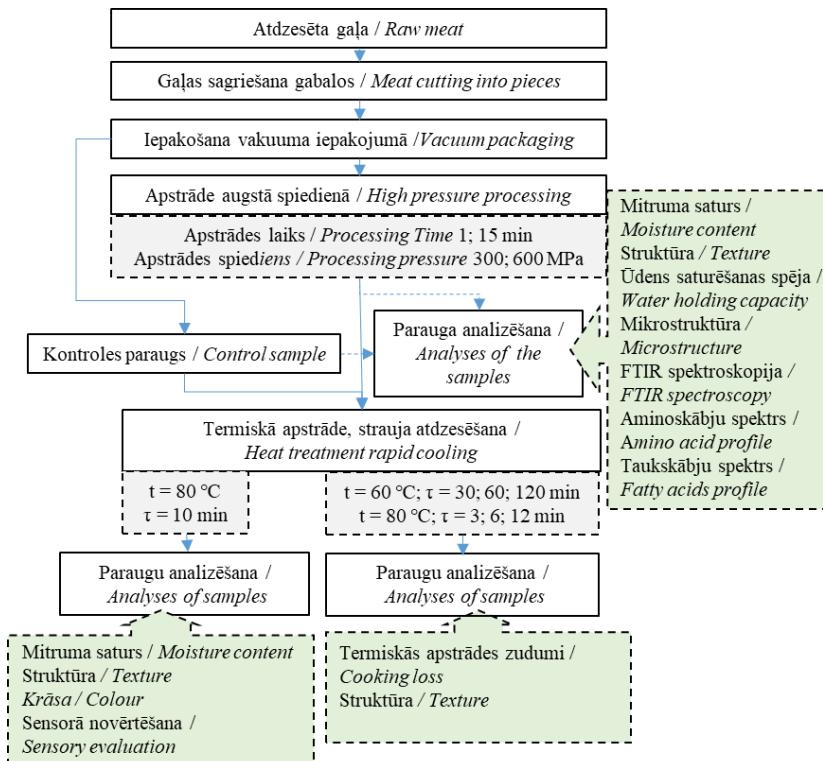
Pētījuma struktūra

Pētījums veikts trijos posmos. I posmā pētīta spiediena iedarbība uz atdzesētu cūkgaļu 50–500 MPa diapazonā ar apstrādes laiku 1, 5 un 15 min. Šajā posmā gaļai veiktas MAFAm, fizikālās un ķīmiskās analīzes un noskaidrota šo kvalitātes rādītāju dinamika atkarībā no pielietotā spiediena un laika. Pētījuma I posma struktūras shēma parādīta 1. attēlā.



1. att. Pētījuma I posma struktūras shēma /
Fig.1. Scheme of the research - stage I

II posmā izmantots 300 MPa un 600 MPa spiediens, ar apstrādes laiku 1 un 15 minūtes. Pētījuma II posma struktūras shēma parādīta 2. attēlā. Šajā pētījuma posmā tika noskaidrots, kā mainās augstspiedienā apstrādātas gaļas fizikālie, ķīmiskie un sensorie rādītāji pēc paraugu turpmākas termiskās apstrādes. Gaļas termiskā apstrāde veikta 60 un 80 °C temperatūrā un pēc tam novērtētas produkta fizikāli ķīmisko rādītāju izmaiņas, ņemot vērā procesa iedarbības ilgumu.



2. att. Pētījuma II posma struktūras shēma /
Fig. 2. Scheme of the research - stage II

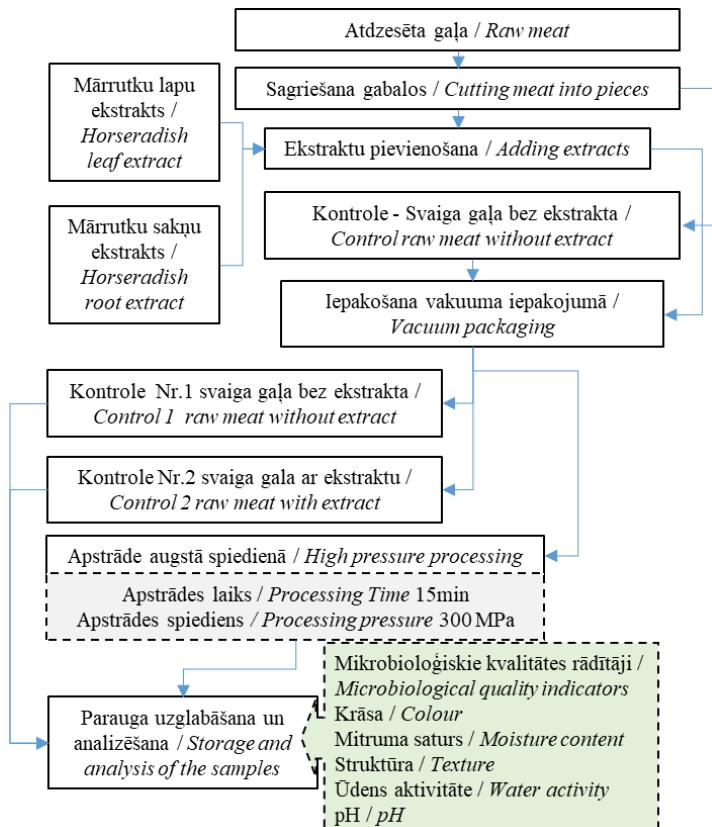
Gaļas paraugu termiskā apstrāde. Analīzēm paredzētos cūkgalas paraugus vakuumu iepakojumā pēc apstrādes augstspiedienā termiski apstrādā ūdens vannā *AppliTek 21AT* (HetoLabEquipment, Dānija):

- līdz gaļas parauga vidusdaļā tiek sasniegta 80 ± 2 °C temperatūra, un tad karsēšanu turpina vēl 3, 6, 9 un 12 minūtes, pēc tam gaļu strauji atdzesē ledus ūdenī līdz 10 ± 2 °C temperatūrai;

- līdz gaļas parauga vidusdaļā tiek sasniegta 60 ± 2 °C temperatūra, un tad karsēšanu turpina vēl 30, 60, 90 un 120 minūtes, pēc tam gaļu strauji atdzesē ledus ūdenī līdz 10 ± 2 °C temperatūrai.

Sensorajai vērtēšanai paredzētos cūkgalas paraugus pēc HPP apstrādes, neizņemot no iepakojuma, pagatavo ūdens vannā *AppliTek 21AT* (HetoLabEquipment, Dānija) līdz vidusdaļā, tiek sasniegta 80 °C temperatūra, un tad vārīšanu turpina vēl 10 minūtes. Pēc vārīšanas gaļu strauji atdzesē ledus ūdenī līdz 10 ± 2 °C temperatūrai.

Eksperimentu III posmā pētīta gaļa, kurai pirms apstrādes augstspiedienā pievienotas mārrutku lapu un sakņu sulas mikrokapsulas (3. att).



3. att. Pētījuma III posma struktūras shēma /
Fig. 3. Scheme of the research – stage III

Balstoties uz iepriekšējos pētījuma posmos iegūtajiem rezultātiem, šajā posmā nolemts izmantot 15 minūšu apstrādi 300 MPa spiedienā.

Gaļai pievienojamo mārrutku sulas mikrokapsulu daudzumu izvēlas, ņemot vērā citu pētnieku veiktos eksperimentus (Azman et al., 2015; Masoodi, 2016). Gaļai pievienoja 1.3 g mikrokapsulētas mārrutku sakņu sulas, vai 0.13 g mikrokapsulētas lapu sulas uz 100 g produkta.

Pētījumā veikto analīžu metodes

Noteikto rādītāju analīžu metodes apkopotas 2. tabulā.

2. tabula / *Table 2*

Gaļas paraugu analīzei izmantotie standarti un metodes / Standards and methods used for analysis of meat samples

N.p.k/ No	Rādītāji / Parameters	Standarti un metodes / Standards and methods
1.	MAFAm, KVV g^{-1} / TPC, CFU g^{-1}	LVS EN ISO 4833–1:2014
2.	pH / pH	LVS ISO 2917:2004
3.	Krāsa / Colour	LVS ISO 144:1997
4.	Mitruma saturs / Moisture content, %	ISO 24557:2009
5.	Ūdens saturēšanas spēja / Water holding capacity: • centrifugēšanas metode / centrifugation method • saspiešanas metode / pressing method	Januškevičiene et al., 2012
6.	Termiskās apstrādes zudumus / Cooking loss, %	Pathare, Roskilly, 2016
7.	Sīkstums / Hardness, N	Pathare, Roskilly, 2016
8.	Histoloģiskie šķērsgriezumi / The histological cross sections	Trespalacios, Pla (2007)
9.	Vides skenēšanas elektroniskā mikroskopija / Environmental scanning electronic microscopy	Das Murtey, Ramasamy (2016); Zheng, Zhang (2012)
10.	Ūdens aktivitāte / Water activity, a_w	ISO 21807:2004
11.	Olbaltumvielu saturs / Protein content, g 100 g^{-1}	LVS ISO 937:1978
12.	Aminoskābes / Amino acids, g 100 g^{-1}	PB-53/HPLC ed. II of 30.12.2008.
13.	Taukskābes / Fatty acids, g 100 g^{-1}	PN-EN ISO 12966–1:2015–01, PN-EN ISO 12966–2:2017–05 except p.5.3 and 5.5, PN-EN ISO 12966–4:2015–07
14.	FTIS spektroskopija / FTIR spectroscopy	Sazonova et al., 2019b
15.	Sensorā vērtēšana / Sensory evaluation	ISO 4121:2003

Datu matemātiskā apstrāde

Analīžu rezultāti apstrādāti, izmantojot *Microsoft Excel* programmas datu matemātiskās statistikas metodes. Iegūtajiem rezultātiem aprēķināta vidējā aritmētiskā vērtība un standartnovirze. Datu interpretācijai lietota vienfaktora

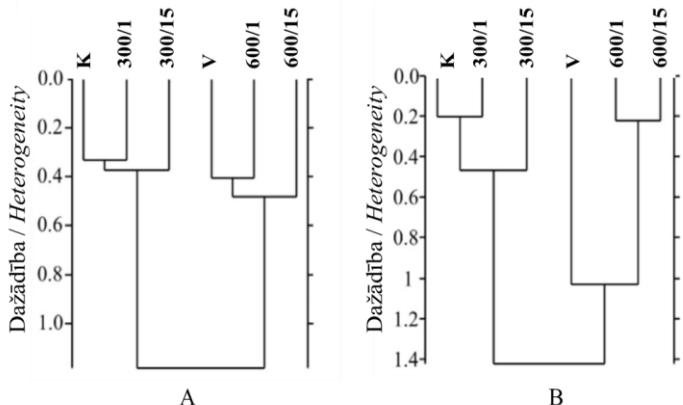
dispersijas analīze ANOVA (*One way Analysis of Variance*) un Tjūkija tests (*Tukey test for multiple comparison*). Iegūto datu būtiskuma līmeni raksturo p vērtība (ja $p > 0.05$, dati būtiski neatšķiras, ja $p \leq 0.05$, dati būtiski atšķiras). Spektra datus apstrādā, izmantojot dekonvolāciju, hierarhisko klasteru analīzi un integrāciju (Opus 6.5, Bruker Optics, Vācija), kā arī divkāršo t-testu statistisko analīzi.

PĒTĪJUMA REZULTĀTI UN DISKUSIJA

1. Augstspiedienā apstrādātās cūkgaļas makromolekulārās struktūras FTIR spektroskopijas pētījumi

Augstspiediena apstrādes laikā notiek olbaltumvielu fizikālo īpašību izmaiņas, jo augstāks spiediens, jo izteiktākas ir gaļas olbaltumvielu izmaiņas. Muskuļaudu un šūnsulu spektros redzamas lipīdiem raksturīgās C-H saīšu stiepšanās absorbcijas joslas pie frekvencēm $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$, robežās $1700\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ parādās olbaltumvielās esošās peptīdu amīdgrupas, tipiskas amīda I ($\sim 1657\text{ cm}^{-1}$) un amīda II ($\sim 1544\text{ cm}^{-1}$) absorbcijas joslas. Gan muskuļaudu, gan šūnsulu spektros augstākā absorbcijas intensitāte parādās olbaltumvielām atbilstošajā spektra daļā robežās $1700\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$.

Analizējot gaļas **muskuļaudu** vai **šūnsulas spektru**, **hierarhiskā klasteru analīze (HCA)** var viegli atdalīt kontroles paraugu un paraugus, kas apstrādāti 300 MPa un 600 MPa spiedienā (4. att.).

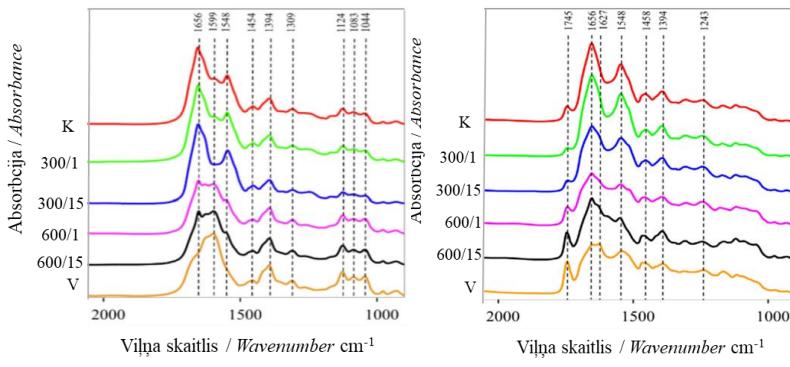


4. att. Cūkgaļas muskuļaudu (A) un šūnsulas (B) hierarhiskā klasteru analīze /

Fig. 4. Hierarchical cluster analysis of pork muscles (A) and juices (B)

Klasteru analīzē iegūtie rezultāti rāda, ka gan muskuļaudu, gan šūnsulas spektri tiek grupēti līdzīgi divās apakšgrupās. Muskuļaudi, kas pakļauti 300 MPa spiedienā apstrādei, ir spektrāli (strukturāli) līdzīgi neapstrādātiem muskuļaudiem un to atšķirības palielinās, pagarinot HPP apstrādes ilgumu no vienas līdz 15 minūtēm. Savukārt palielinot apstrādes spiedienu no 300 līdz 600 MPa, muskuļaudu FTIS spektri kļūst līdzīgāki termiski apstrādātas gaļas spektriem.

Visos gaļas **šūnsulas paraugu FTIS spektros** – kontroles paraugs, termiski apstrādāta, apstrādāta 300 un 600 MPa spiedienā 1 vai 15 minūtes – visintensīvākā absorbceja konstatēta amīda I un amīda II joslā pie frekvencēm $1700\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$. Palielinot HPP apstrādes spiedienu līdz 600 MPa, olbaltumvielām raksturīgajā reģionā absorbceju pārklāšanās ir izteiktāka un redzama plata absorbcejas josla ar nelielām smailēm pie 1653 cm^{-1} (amīds I) un $1600\text{--}1599\text{ cm}^{-1}$, bet gandrīz pilnībā pazūd amīda II absorbcejas smaile. Termiski apstrādātas gaļas šūnsulas spektrā olbaltumvielām raksturīgajā reģionā novērota viena plaša absorbcejas josla ar tikai vienu maksimuma smaili pie frekvences 1598 cm^{-1} . Globulāro olbaltumvielu amīda I un amīda II absorbcejas joslu forma raksturo to otrējo struktūru. Šūnsulu paraugos, kas apstrādāti 600 MPa spiedienā, šīs izmaiņas amīda II joslas formā, smailes maksimuma frekvencē, absorbcejas intensitātē, salīdzinot ar kontroles paraugu, liecina par olbaltumvielu otrējās struktūras izmaiņām, kā arī otrējās struktūras α -spirāles un β -struktūras proporciju un saturu izmaiņām (5. att).



5. att. Cūkgalas muskuļaudu (A) un šūnsulas (B) vektoru normalizētie FTIS spektri / Fig. 5. Vector normalized FTIR spectra of pork muscle (A) and meat juice (B)

Cūkgalas muskuļaudu FTIS spektroskopijā, paaugstinoties spiedienam un HPP apstrādes laikam, redzams, ka salīdzinājumā ar kontroles paraugu spektros parādās atšķirības (5. att.) amīda I (1655 cm^{-1}) un amīda II (1548 cm^{-1}) absorbcejas joslās. Amīda I un II pīķi kļūst platāki, un izlīdzinās

absorbcijas intensitātē starp tiem. Muskuļaudu kontroles parauga un paraugu, kas apstrādāti 300 MPa spiedienā, spektros redzamas izteiktas amīdiem raksturīgās absorbcijas maksimuma smailes, savukārt paraugos, kas apstrādāti 600 MPa spiedienā, abas amīda joslas stipri pārkļājas. Vārītas gaļas muskuļaudu spektros absorbcijas maksimums redzams pie frekvences 1627 cm^{-1} . Tā kā amīda smaiļu forma ir tiešs olbaltumvielu otrējās struktūras spektrālais attēlojums, ar spektru dekonvolāciju uz to otrajiem atvasinājumiem iespējams noteikt HPP izraisītās olbaltumvielu strukturālās izmaiņas.

2. Augstspiediena apstrādes ietekme uz MAFAm skaitu cūkgaļā un to ietekmējošiem faktoriem

MAFAm skaita izmaiņas cūkgaļā pēc HPP apstrādes parādītas 6. attēlā. Atsevišķu mikroorganismu sugas pētījuma ietvaros netika izvērtētas.

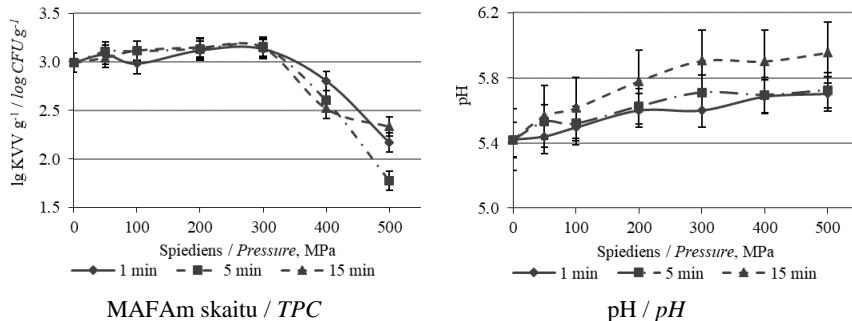
Kopējais kontroles paraugā noteiktais mikroorganismu skaits bija $2.99\text{ lg KVV g}^{-1}$. Neatkarīgi no apstrādes laika gaļas mikroorganismu skaits nesamazinājās, spiedienu paaugstinot līdz pat 300 MPa. Turpretim, veicot apstrādi spiedienā virs 300 MPa, novērota būtiska mikroorganismu skaita samazināšanās ($p < 0.05$). Iegūtie rezultāti saskan arī ar citu autoru secinājumiem par mikroorganismu inaktivāciju augstspiediena apstrādē spiedienā diapazonā no 400 līdz 600 MPa ar ūsu apstrādes laiku (3–7 min) (Del Olmo et al., 2014). Līdzīgi kā citu zinātnieku pētījumos (Simonin et al., 2012), autores veiktie eksperimenti apstiprināja, ka MAFAm inaktivācija ir tieši atkarīga no lietotā spiediena. MAFAm skaits paraugos pēc apstrādes 300 MPa spiedienā telpas temperatūrā 1 minūti bija līdzīgs kā kontroles paraugam – $3.14\text{ lg KVV g}^{-1}$. Savukārt pēc apstrādes 500 MPa spiedienā 1 minūti MAFAm skaits ievērojami samazinājās un sasniedza $2.17\text{ lg KVV g}^{-1}$, pēc apstrādes 500 MPa spiedienā 5 minūtes un 15 minūtes – attiecīgi $1.77\text{ lg KVV g}^{-1}$ un $2.33\text{ lg KVV g}^{-1}$.

Kopējā mikroorganismu skaita dinamika norāda, ka atšķirības starp paraugiem, kas pakļauti spiedienam dažādos laika intervālos, ir nebūtiskas ($p > 0.05$). Tas parāda, ka mikroorganismu letalitāte atkarīga no lietotā spiediena, bet nav atkarīga no apstrādes laika.

Mikroorganismi kļūst baroizturīgāki, ja pH vērtība ir tuva neitrālai vides reakcijai, bet kļūst jutīgāki, ja pH vērtība samazinās. Pētījumā konstatēts, ka atdzesētas cūkgaļas pH bija 5.51 ± 0.06 , bet pH nedaudz samazinājās pēc gaļas iepakošanas vakuumā, sasniedzot 5.42 ± 0.06 . Svaigas gaļas pH pēc apstrādes spiedienā intervālā 50–200 MPa 1–5 minūtes būtiski nemainījās ($p > 0.05$).

Gaļas apstrāde augstspiedienā var radīt atgriezenisku pH samazinājumu, ko izraisa mainīgās skābju un bāzu disociācijas konstantes (Stippl et al., 2004). Cūkgaļas apstrādē lietotā spiediena palielināšana izraisīja nebūtisku ($p > 0.05$) pH paaugstināšanos (6. att.). Salīdzinot dažādus ekspozīcijas laikus,

novērots, ka visu gaļas paraugu pH piemīt tendence paaugstināties, tomēr atšķirības nav būtiskas ($p > 0.05$).



6. att. Augstspiediena apstrādes ietekme uz cūkgaļas paraugu pH un MAFAm / Fig 6. Effect of HPP on the pork meat samples pH and TPC

Eksperimentos izmantotās atdzesētās cūkgaļas vidējā ūdens aktivitāte bija 0.940 ± 0.05 . Netika novērotas būtiskas ūdens aktivitātes atšķirības ($p > 0.05$) starp augstspiedienā apstrādātiem cūkgaļas paraugiem ar dažādiem eksponēcijas laikiem.

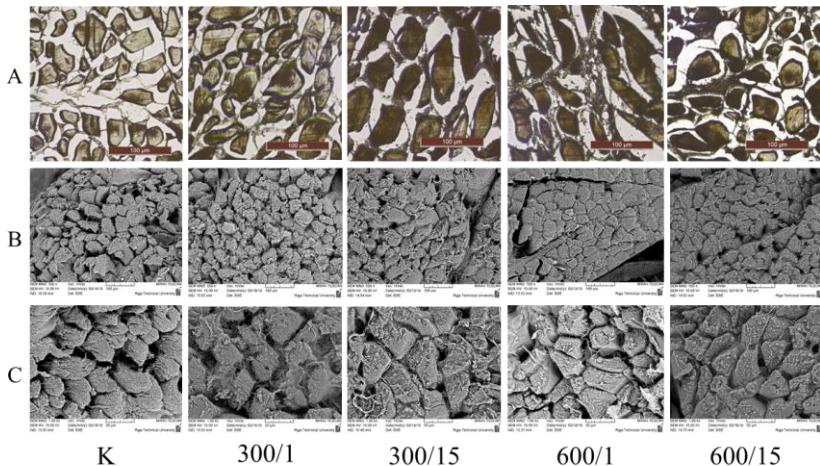
3. Augstspiediena apstrādes ietekme uz cūkgaļas fizikāli kīmiskajiem rādītājiem

Zinātnieku pētījumi pierāda, ka augstspiediens ievērojami ietekmē mikrofibrillāro olbaltumvielu īpašības, piemēram, šķīdību (Chapleau et al., 2003a; Chapleau et al., 2004; Gaoshang et al., 2019), kā arī to spēju saistīt ūdeni un veidot gēlu. Šādas funkcionālās īpašības ir saistītas ar galas struktūru un ūdens saturēšanu produktā (Duranton et al., 2012).

Histoloģisko paraugu mikroskopija parādīja, ka neapstrādātās cūkgaļas (kontroles parauga) šķiedras izmēri bija mazāki, salīdzinot ar augstspiedienā apstrādātiem paraugiem. Pēc HPP apstrādes nedaudz palielinājās šķērsgriezuma laukums, tas korelē ar muskuļķiedru palielinātu ūdens ietilpību un var būt skaidrojams ar olbaltumvielu denaturāciju. 7. attēlā redzami cūkgaļas muskuļaudu histoloģiskie un ESEM šķērsgriezumi pēc HPP (saistaudi ir gaiši, šķiedras – tumšas).

Starp paraugiem nav novērotas statistiski nozīmīgas ($p > 0.05$) atšķirības muskuļaudu šķiedras šķērsgriezuma laukumā un starpsavienojumu telpas attālumā. Šādi rezultāti norāda, ka muskuļaudu struktūra saglabā formu pēc apstrādes. Zhang et al. (2018) apraksta olbaltumvielu ceturtējās, trešējās un otrējās struktūras transformāciju, kas maina gan gaļas struktūru, gan funkcijas.

Šādu efektu parasti iespējams panākt, izmantojot 200 MPa un augstāku spiedienu.



7. att. Augstspiedienā apstrādātās cūkgalas un kontroles paraugu muskuļaudu šķērsgriezumi. Histoloģiskie šķērsgriezumi attēloti $400 \times$ palielinājumā (A rinda). ESEM šķērsgriezumi novēroti $500 \times$ palielinājumā (B rinda) un $1000 \times$ palielinājumā (C rinda)/

Fig. 7. Cross section of pork muscle tissue after HPP treatment.

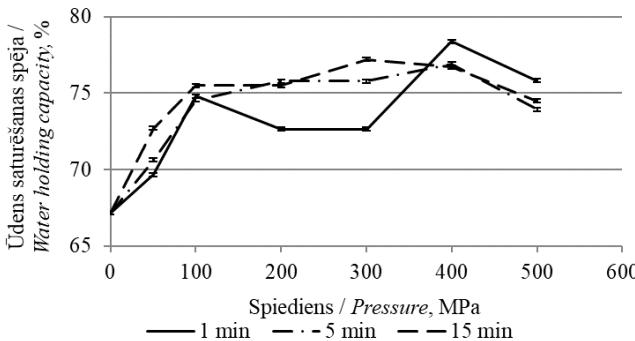
The histological cross sections at $400 \times$ magnification (row A).

ESEM cross sections were observed at $500 \times$ magnification (row B), and at $1000 \times$ magnification (row C)

Pētījumos noskaidrots, ka, lietojot augstspiedienu, **mitruma saturs** cūkgalā samazinās, bet izmaiņas nav atkarīgas no izmantotā spiediena vai apstrādes laika. Lietojot spiedienu ar dažādiem ekspozīcijas laikiem, būtiskas atšķirības starp gaļas paraugiem ($p > 0.05$) netika konstatētas. Spiediena ietekme uz ūdeni izpaužas galvenokārt ar jonizācijas palielināšanos, kas izraisa pH samazināšanos spiediena ietekmē.

Pētījumos noskaidrots, ka lielāks **ūdens saturēšanas spējas** (WHC) pieaugums novērots 15 minūtes apstrādātiem paraugiem, salīdzinot ar paraugiem, kas apstrādāti 1 minūti. Spiediena ietekmē nozīmīgākās izmaiņas notiek gaļas sarkoplazmā un miofibrillu olbaltumvielās (8. att.), kas ir jutīgas pret denaturāciju.

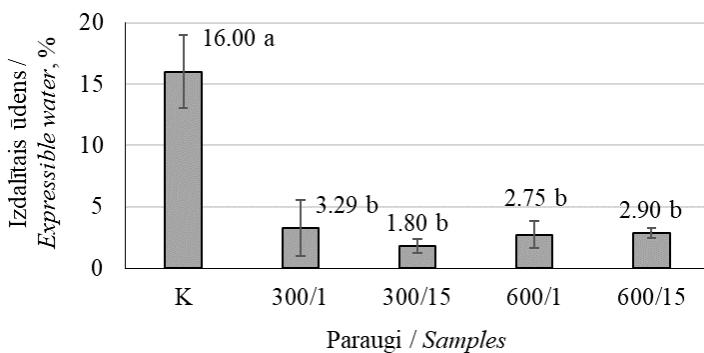
Apstrādes laikā notiek olbaltumvielu denaturācija. Tā ietekmē faktorus, kuri palielina gaļas pH un olbaltumvielu elektrostatisko pārveidošanos, kas savukārt samazina ūdens izdalīšanos no gaļas (gaļas atsulošanos) (Guyon et al., 2016).



8. att. HPP ietekme uz cūkgaļas paraugu ūdens saturēšanas spēju /
Fig. 8. Effect of HPP mode on pork water holding capacity

Savukārt cūkgaļas paraugu centrifugēšana parāda, ka lielāks **izdalītā ūdens daudzums** atrodas kontroles paraugā ($16.00 \pm 2.98\%$) un tas ir aptuveni piecas reizes augstāks nekā HPP paraugos (9. att.).

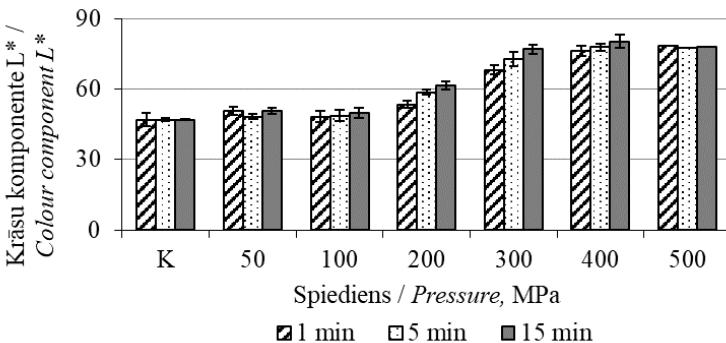
Starp HPP paraugiem visaugstākā ūdens saturēšanas spēja ir cūkgaļas paraugam 300/15, jo tai novērots vismazākais izdalītā ūdens daudzums ($1.8 \pm 0.55\%$), bet viszemākā WHC konstatēta paraugam 300/1. Apstrādes laiks neietekmē no cūkgaļas izdalītā ūdens daudzumu, ja tā apstrādāta 600 MPa spiedienā jo spiediens virs 300 MPa izraisa izteiktāku olbaltumvielu denaturāciju un olbaltumvielu elektrostatisko pārveidošanos, kā rezultātā samazinās ūdens izdalīšanās no gaļas (Guyon et al., 2016). Atšķirības starp kontroles paraugu un HPP paraugiem ir nozīmīgas ($p < 0.05$).



9. att. HPP ietekme uz cūkgaļas paraugu izdalīto ūdens daudzumu /
Fig. 9. Effect of HPP mode on expressible water in pork
detected by centrifugation method

Eksperimentos noskaidrots, ka neatkarīgi no lietotā spiediena vai laika nav konstatētas būtiskas atšķirības izdalītajā ūdens daudzumā starp paraugiem, kas apstrādāti augstspiedienā ($p > 0.05$).

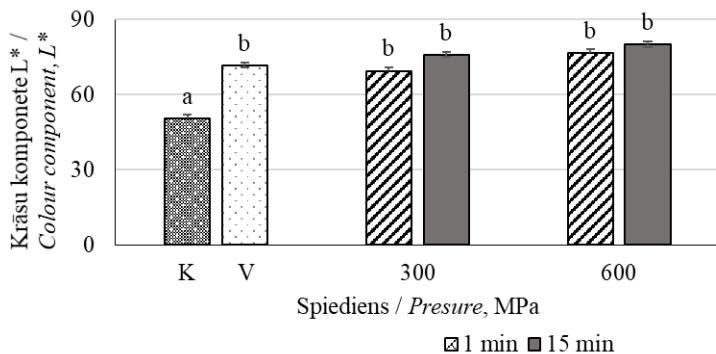
Cūkgaļa HPP 50–100 MPa spiedienā nemaina krāsu, un šajā spiediena diapazonā krāsas izmaiņas ir atkarīgas no ekspozīcijas laika (10.att.). Tomēr, spiedienu paaugstinot robežās no 100 līdz 400 MPa, pieaug krāsas komponentes L* vērtība.



10.att. HPP ietekme uz cūkgalas paraugu krāsas komponentes L* vērtību/
Guyon et al. (2016)

Fig. 10. Effect of HPP mode on pork colour component L value*

Krāsas komponentes L* vērtības izmaiņas nav atkarīgas no apstrādes laika, bet ir atkarīgas no apstrādes spiediena ($p < 0.05$). Kā skaidro Guyon et al. (2016), tas saistīts ar olbaltumvielu koagulāciju, kas ietekmē paraugu struktūru un virsmas īpašības, vai arī ar globulīna denaturāciju un hēma grupas pārvietošanos vai izdalīšanos.



11.att. Krāsas komponentes L* vērtības izmaiņas (0 – melns, 100 – balts)/
Guyon et al. (2016)

Krāsas komponentes L* vērtības pieaugums tika novērots gan pēc termiskās apstrādes, gan pēc apstrādes augstspiedienā (11.att.). Gaļas krāsa pēc HPP apstrādes līdzinās vārītas gaļas krāsai. Vairāki citu zinātnieku

pētījumi liecina, ka spiediena robežvērtība ir 300–400 MPa, kad gaļa iegūst bālāku krāsu. Šīs izmaiņas ir neatgriezeniskas.

Aminoskābju satus. Eksperimentāli noteikts, ka augstspiedienā apstrādātas gaļas, aminoskābju satus būtiski neatšķiras ($p > 0.05$), neatkarīgi no lietotā spiediena un apstrādes laika.

Pētījumā konstatēto aminoskābju kopējais satus neapstrādātā galā bija 21.67 g 100 g⁻¹, bet apstrādātā galā tas svārstījās robežās no 22.57 g 100 g⁻¹ līdz 23.31 g 100 g⁻¹. Neatkarīgi no pielietotā spiediena un apstrādes laika, aminoskābju satus galā būtiski neatšķīras ($p > 0.05$). Augstspiediena ietekmē mainās starpmolekulārais līdzsvars, kas savukārt ietekmē olbaltumvielu mijiedarbību. Spiediena ietekmē izraisīta olbaltumvielu denaturēšanās ir atkarīga no tādiem faktoriem kā temperatūra, pH, jonu stiprība, spiediena un laika attiecība (Chapleau et al., 2004) (3. tabula).

3. tabula / Table 3

Aminoskābju satus cūkgalā atkarībā no apstrādes spiediena un laika / Content of amino acids in meat depending on treatment pressure and time

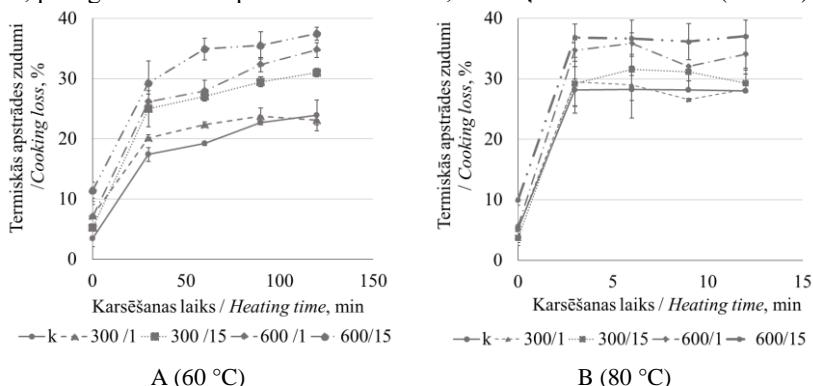
Aminoskābes / Amino acids		Aminoskābju satus, g 100 g ⁻¹ / Content of amino acids, g 100 g ⁻¹			
		K	300/1	300/15	600/1
Aizstājamās / Non – essential	Alanīns / Ala	1.22	1.28	1.31	1.23
	Arginīns / Arg	1.90	2.06	2.15	2.04
	Aspargīnskābe/ Asp	1.95	2.06	2.18	2.05
	Cistīns / Cys	0.19	0.20	0.21	0.20
	Glicīns / Gly	1.04	1.10	1.03	0.97
	Glutamīnskābe / Glu	3.31	3.42	3.60	3.47
	Prolīns / Pro	0.86	0.91	0.88	0.84
	Serīns / Ser	0.82	0.92	0.93	0.88
	Tirozīns / Tyr	0.77	0.78	0.83	0.82
Neaizstājamās / Essential	Fenilalanīns / Phe	0.91	0.92	0.96	0.96
	Histidīns / His	0.96	1.08	1.14	1.06
	Izoleicīns / Ile	1.03	1.03	1.08	1.06
	Leicīns / Leu	1.78	1.83	1.90	1.86
	Lizīns / Lys	2.20	2.10	2.27	2.23
	Metionīns / Met	0.64	0.69	0.71	0.70
	Treonīns / Thr	1.00	1.08	1.11	1.08
	Triptofāns / Trp	0.20	0.22	0.25	0.24
	Valīns / Val	1.09	1.11	1.15	1.12
Kopā / Total		21.67	22.57	23.44	22.57
Neaizstājamo aminoskābju summa / Sum of essential amino acids		9.87	10.04	10.49	10.24
					10.54

Taukskābju sastāvs ir viens no svarīgākajiem rādītājiem, kura izmaiņas augstspiedienā apstrādes laikā var negatīvi ietekmēt gaļas sensorās īpašības un uzturvērtību (Wood et al., 2008).

Paraugiem, kas apstrādāti augstspiedienā, novērojama kopēja tendence, un tā rāda, ka tauku satus samazinās. Tas varētu būt skaidrojams ar nelielu tauku izdalīšanos no gaļas spiediena ietekmē, uz ko norāda arī no cūkgaļas izdalītās šūnsulas FTIS spektroskopija (Sazonova et al., 2019b).

4. Augstspiedienā ietekme uz cūkgaļas masas zudumiem termiskās apstrādes laikā, gaļas sensoro un fizikālo īpašību izmaiņas

Cūkgaļas masas zudumus ietekmē gan apstrādes laiks, gan spiediens, bet, paaugstinoties temperatūrai līdz 80°C , šis atšķirības samazinās (12. att.).

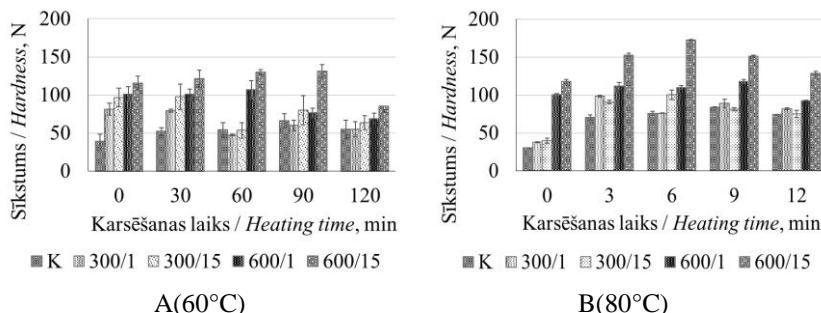


12. att. Augstspiedienā apstrādātas cūkgaļas termiskās apstrādes zudumi atkarībā no karsēšanas laika un temperatūras / Fig. 12. Cooking loss from HPP treated meat depending on treatment time and temperature

HPP izraisītā denaturēšanās procesa laikā gaļas olbaltumvielas var izšķist vai nogulsnēties atkarībā no izmantotā spiediena (Sun & Holley, 2010). Termiskās apstrādes laikā denaturējas gaļas olbaltumvielas, un tas izraisa gaļas strukturālās izmaiņas, piemēram, šūnu membrānu saplīšanu, gaļas šķiedru sairšanu, miofibrillāro un sarkoplazmas olbaltumvielu uzkrāšanos un veidošanos, kā arī saistaudu šķīdības samazināšanos (Latif, 2010).

Augstspiedienā apstrādātu cūkgaļu karsējot 60°C un 80°C temperatūrā, termiskās apstrādes zudumi dažādos laika posmos būtiski atšķiras ($p < 0.05$). Novērojams pakāpenisks zudumu palielinājums, pieaugot karsēšanas laikam. Savukārt termiskās apstrādes beigās abās temperatūrās apstrādāti paraugi uzrāda līdzīgus rezultātus. Tomēr iegūtie aprēķini neuzrāda būtiskas atšķirības apstrādes 120. un 12. minūtē ($p = 0.717$), attiecīgi paraugos, kas apstrādāti 60°C un 80°C temperatūrā.

Apkopojot rezultātus par augstspiedienā apstrādātas vārītas galas **sīkstuma izmaiņām**, noskaidrots, ka, karsējot 60°C temperatūrā, pastāv būtiskas atšķirības ($p < 0.05$) starp paraugu 600/15 un pārējiem paraugiem. Savukārt, karsējot 80°C temperatūrā, rodas būtiskas atšķirības ($p < 0.05$) starp visiem paraugiem (13.att.)



13. att. **HPP cūkgalas sīkstuma izmaiņas atkarībā no karsēšanas laika un temperatūras /**

Fig. 13. Cooked HPP pork hardness, depending on the time of heating

Termiskās apstrādes laikā daļa no nešķistošajām gaļas olbaltumvielām pārveidojas šķistošajās olbaltumvielās, to denaturēšanās pakāpe ir atkarīga no gatavības pakāpes vai sasniegtais temperatūras, karsēšanas laika un gaļas pH. Jo augstāka temperatūra tiek sasniegta un jo ilgāk gaļu iztur šādā temperatūrā, jo augstāka ir denaturācijas pakāpe. Denaturācijas ietekmē gaļa kļūst stingra un blīva (Sun & Holley, 2010). Termiski apstrādātas gaļas struktūra ir saistīta ar saistaudu un kolagēna īpašību izmaiņām termiskās apstrādes iedarbībā (Chang et al., 2011).

Cūkgalas sensoro un fizikālo īpašību izmaiņas augstspiediena apstrādē. Sensorajā novērtēšanā noteiktās sensoro īpašību intensitātes (4. tabula) izvēlētas, ņemot vērā svarīgākos gaļas kvalitātes rādītājus balstoties uz Bak et al. (2012) un Reed et al. (2017) veiktajiem patēriņtāju pētījumiem.

Apkopojot iegūtos rezultātus, var secināt, ka starp paraugiem nepastāv būtiskas atšķirības krāsas ($p = 0.307$) un aromāta ($p = 0.864$) intensitātē. Taču starp paraugiem pastāv ievērojamas atšķirības sulīgumā ($p = 0.003$) un sakošlājamībā ($p = 0.000$), ko vairāk ietekmē apstrādes spiediens, nevis laiks.

Krāsas intensitātes novērtējums. Konstatēts, ka pēc HPP paraugu termiskās apstrādes krāsas atšķirības vairs nav būtiskas. Krāsas intensitātes novērtējums svārstās robežās no 2.07 līdz 2.37, kas ir tuvs gaīsai krāsai. Līdz ar to var apgalvot, ka krāsas izmaiņas augstspiediena apstrādes ietekmē nav būtiskas, ja pirms turpmākas izmantošanas pārtikā tiek veikta produkta termiskā apstrāde. Kā jau noskaidrots, pēc termiskās apstrādes analizēto paraugu krāsa ir raksturīga vārītai gaļai. Krāsas komponentes L^* vērtība vidēji

ir 71.47; $a^* = -1.1$; $b^* = 14.42$. Arī instrumentālie mērījumi neuzrāda būtiskas atšķirības ($p = 6.964$) starp analizētajiem paraugiem.

4. tabula / Table 4

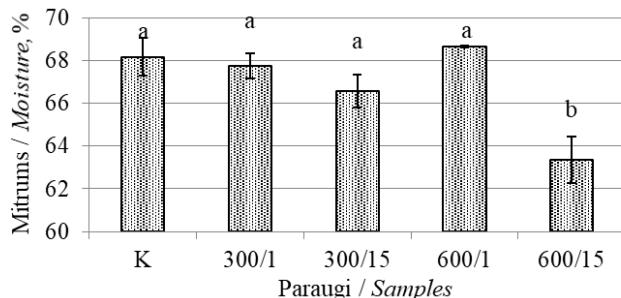
**Vārītas augstspiedienā apstrādātās cūkgaļas sensoro īpašbu intensitāte /
Intensity of sensory attributes of cooked high pressure treated pork**

Paraugs / Sample	Krāsa / Colour ¹	Aromāts / Flavour ¹	Sulīgums / Juiciness ¹	Sakošlājamība / Cheviness ¹
K	2.07 a*	2.90 a	2.67 b	3.27 b
300/1	2.37 a	2.70 a	2.83 b	3.47 b
300/15	2.07 a	2.70 a	3.10 b	3.53 b
600/1	2.23 a	2.70 a	2.33 ab	1.83 a
600 15	2.37 a	2.67 a	1.70 a	1.33 a

¹Izvērtēts ar 5 punktu līnijskalu (1 – gaiša, vāja, sausa, sīksta; 5 – tumša, intensīva, sulīga, mīksta) / Evaluated by a 5 – point line scale (1 – light, weak, dry, tough; 5 – dark, intense, juicy, soft).

Aromāta intensitātes novērtējums. Vērtētāji testēja galas aromāta intensitāti, kas būtiski ietekmē patērētāju lēmumu par produkta izvēli. Starp novērtētajiem paraugiem nav konstatētas būtiskas atšķirības ($p > 0.05$). Visu paraugu aromāta intensitāte novērtēta 5 punktu līnijskalas diapazonā no 2.67 līdz 2.90, tās vidū atrodas pozīcija “ne vāja, ne izteikta”. Paraugi izteiktu aromātu ir ieguvuši termiskās apstrādes laikā, bet ne augstspiediena apstrādē.

Sulīguma intensitātes novērtējums. Sensorā novērtējuma rezultāti parāda, ka cūkgaļas paraugi, kas apstrādāti 600 MPa spiedienā, novērtēti kā sausi (1.70–2.33), salīdzinot ar kontroles paraugu vai paraugiem, kuri apstrādāti 300 MPa spiedienā (14. att.).



14. att. HPP cūkgaļas paraugu mitruma satus pēc termiskās apstrādes /
Fig. 14. Moisture content of the studied HPP pork samples after cooking

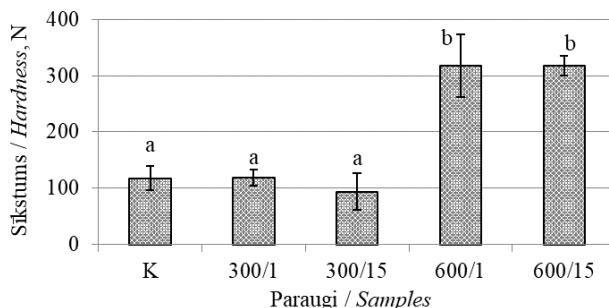
Sensorajiem novērtēšanas rezultātiem raksturīga vidēji cieša korelācija ($r = 0.619$) ar iegūtajiem paraugu mitruma saturu mērījumiem. Šādi rezultāti var liecināt par zemāku mitruma saturu paraugos, kas neatkarīgi no lietotā spiediena apstrādāti ilgāku laika periodu (15 minūtes, salīdzinot ar 1 minūti).

Veiktie aprēķini parāda, ka no pārējiem paraugiem būtiski atšķiras paraugs 600/15 ($p < 0.05$). Šā parauga sulīguma intensitātes novērtējums ir 1.70, un tā raksturojums – “sausa”. Termiskās apstrādes laikā muskuļaudi zaudē ūdeni, bet olbaltumvielas kļūst mazāk elastīgas un stingrākas.

Struktūras intensitātes novērtējums. Sensorās novērtēšanas rezultāti parāda, ka starp paraugu sensorajām īpašībām – sulīgumu un sakošlājamību – pastāv cieša korelācija ($r = 0.943$). Paraugi, kas apstrādāti 600 MPa spiedienā, saskaņā ar sensoro novērtējumu ir mazāk sulīgi. Šo paraugu sakošlājamība novērtēta kā slikta – respektīvi, šie paraugi ir sīksti. Paraugam ar apstrādes laiku 1 minūte sakošlājamība ir 1.83, bet paraugam, kas apstrādāts 15 minūtes, – 1.33. Šie rezultāti liecina, ka mazāk sulīgus paraugus ir grūtāk sakošlāt un tiem raksturīga stingrāka struktūra. Jāatzīmē, ka sensorajā vērtēšanā iegūtie dati nesakrīt ar rezultātiem, kas iegūti, analizējot paraugu konsistenci ar instrumentālo metodi – struktūras profila analīzi (TPA).

Pieaugot apstrādes laikam no 1 līdz 15 minūtēm gan 300 MPa, gan 600 MPa spiedienā, starp paraugiem konstatētas būtiskas atšķirības gan stingrībai ($p = 0.043$ un $p = 0.004$), gan sakošlājamībai ($p = 0.042$ un $p = 0.001$). Turpretī neatkarīgi no apstrādes laika un lietotā spiediena nav būtisku atšķirību starp stingrību ($p = 0.60$ un $p = 0.539$) un sakošlājamību ($p = 0.121$ un $p = 0.198$).

Analizējot cūkgalas paraugu struktūru ar Warner-Bratzler bīdes ierīci, novērotas būtiskas atšķirības starp analizētajiem paraugiem ($p = 0.010$) un noskaidrots: jo augstāks ir apstrādes spiediens, jo lielāks spēks jāpieliek gaļas sagriešanai (15. att.).



15. att. Termiski apstrādātas HPP cūkgalas paraugu sīkstums, izmantojot Warner-Bratzler bīdes ierīci /

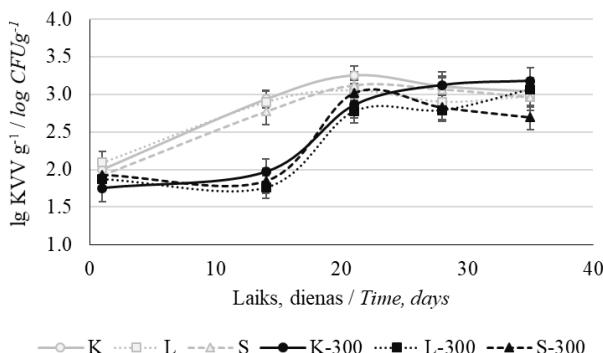
Fig. 15. Hardness of the studied pork samples after HPP and cooking as measured by Warner-Bratzler shear device

Gaļas paraugu stingrība palielinās, ja izmanto augstāku spiedienu (600 MPa), bet tā nav atkarīga no apstrādes laika. Ar šo metodi iegūtie rezultāti korelē ar sensorās vērtēšanās rezultātiem, kas norāda: paaugstinoties

apstrādes spiedienam, cūkgaļas struktūra kļūst stingrāka. Starp dažādiem apstrādes laikiem nav būtisku atšķirību ($p > 0.05$).

5. Uzglabāšanas laika salīdzinājums, kombinējot mikrokapsulētu mārrutku lapu un sakņu sulas pievienošanu ar cūkgaļas apstrādi augstā spiedienā

Eksperimenta sākumā **MAFAm** skaits atdzesētā cūkgaļā bija $1.99 \text{ lg KVV g}^{-1}$, bet augstspiedienā apstrādātā kontroles paraugā $1.75 \text{ lg KVV g}^{-1}$. Uzglabāšanas laikā līdz 14. dienai HPP apstrādātos paraugos MAFAm skaits bija būtiski mazāks ($p < 0.05$) neapstrādātos paraugos. Savukārt 21. dienā, būtiskas atšķirības ($p > 0.05$) starp paraugiem n etika konstatētas (16. att.).



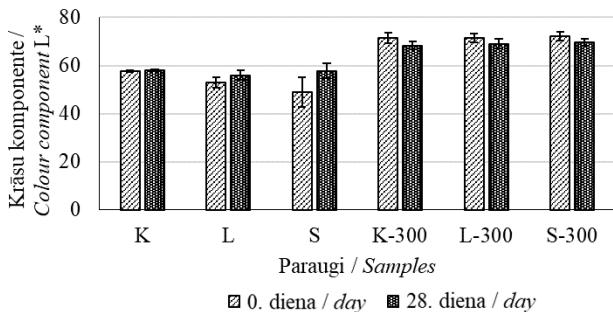
16. att. MAFAm skaita izmaiņas gaļas uzglabāšanas laikā /
Fig. 16. The TPC dynamics in pork meat samples during storage

Eksperimenta sākumposmā noteikts, ka gaļas **pH** bija 5.44 ± 0.02 . Pievienotā mikrokapsulētā mārrutku lapu un sakņu sula gaļas pH neizmainīja. Savukārt, apstrādājot gaļu augstspiedienā, pH pieauga. Veiktie statistiskie aprēķini uzrāda būtiskas atšķirības ($p < 0.05$) starp augstspiedienā apstrādātiem un neapstrādātiem paraugiem. Savukārt starp kontroles paraugu un paraugiem, kas apstrādāti ar mikrokapsulētu mārrutku lapu un sakņu sulu, būtiskas atšķirības nepastāv ($p > 0.05$). Tas attiecas gan uz augstspiedienā apstrādātiem, gan neapstrādātiem paraugiem.

Uzsākot eksperimentus, **ūdens aktivitāte** (a_w) atdzesētā cūkgaļā bija 0.976 ± 0.05 . HPP parauga ar mikrokapsulētu mārrutku lapu sulu ūdens aktivitātes dinamika uzglabāšanas laikā būtiski atšķirās ($p < 0.05$) no pārējiem paraugiem. L-300 paraugam uzglabāšanas laikā novērojama viszemākā ūdens

aktivitāte, salīdzinot ar pārējiem paraugiem. Paraugiem, kuri nav apstrādāti HPP, šādas izmaiņas nav novērotas.

Galas krāsas novērtējums parāda, ka būtiskas ($p < 0.05$) krāsu komponentes L^* vērtības atšķirības pastāv starp dažādi apstrādātiem paraugiem (17. att.). Krāsas komponentes izmaiņas nav atkarīgas ($p > 0.05$) no pievienotās mikrokapsulētās mārrutku lapu un sakņu sulas vai uzglabāšanas laika, bet gan no apstrādes augstā spiedienā, kā rezultātā gaļas krāsa kļūst gaišāka. Tas saistīts ar to, ka olbaltumviela miozīns ir jutīga pret spiediena iedarbību un denaturējas 180–300 MPa spiedienā, iegūstot vārītai gaļai līdzīgu krāsu (Ma & Ledward, 2013).

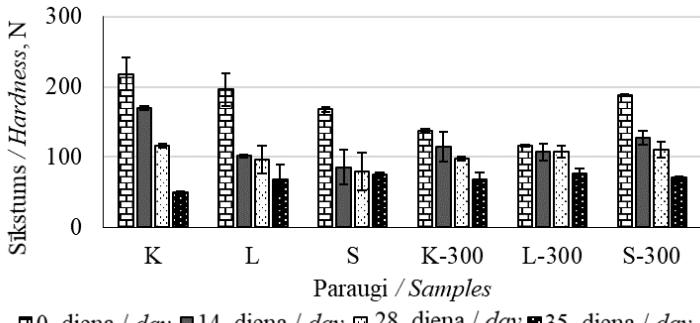


17. att. **Galas paraugu krāsas komponentes L^* vērtības izmaiņas uzglabāšanas sākumā un 28. dienā atkarībā no pievienotās mikrokapsulētās mārrutku lapu vai sakņu sulas un augstspiediena apstrādes /**

Fig. 17. Colour component L^ changes in HPP treated pork meat samples, on the first and 28th day of storage, depending on the added microencapsulated horseradish leaf or root juice*

Atdzesētas cūkgaļas **mitruma saturs** pirms uzglabāšanas bija $69.83 \pm 1.21\%$. Pievienojot mikrokapsulētu mārrutku lapu un sakņu sulu, ieguva mitruma saturu attiecīgi $71.69 \pm 0.34\%$ un $72.53 \pm 0.19\%$. Uzglabāšanas laikā gaļas paraugos mitruma saturs būtiski nemainījās ($p > 0.05$). Pēc 35 dienām vakuuma iepakojumā kontroles parauga mitruma saturs bija $69.70 \pm 2.87\%$, paraugiem ar mikrokapsulētu mārrutku lapu sulu – $71.86 \pm 0.13\%$, bet paraugiem ar mārrutku sakņu sulu – $71.19 \pm 0.19\%$. Savukārt augstspiedienā apstrādātiem paraugiem mitruma saturs bija šāds: kontroles paraugam – $70.00 \pm 0.45\%$, paraugam ar mārrutku lapu sulu – $70.16 \pm 0.59\%$ un paraugam ar mārrutku sakņu sulu – $71.80 \pm 0.27\%$.

Eksperimentāli noteikts, ka uzglabāšanas laikā gaļas sīkstums samazinājās, gaļa kļuva mīkstāka. Šāda tendence novērota visiem paraugiem neatkarīgi no izmantotā apstrādes veida vai pievienotajām piedevām. Uzskatāmi to var aplūkot 18. attēlā.



18. att. Cūkgāļas sīkstuma dinamika HPP paraugiem ar mikrokapsulētu mārrutku lapu un sakņu sulu uzglabāšanas laikā / Fig. 18. The hardness dynamic of HPP treated pork meat with microencapsulated horseradish leaf and root juice during storage

Veiktie aprēķini būtiskas atšķirības neuzrādīja ($p = 0.140$). Saskaņā ar Olivera *et al.* (2013) datiem pēc 24 h ilgas pēcnāves muskuļu audu glikogēna noārdīšanās samazinājās gaļas sīkstums. Šo degradāciju izraisa proteolītiskie enzīmi, piemēram, kalpaīnās un liposomālās proteāzes. Uzglabāšanas laiks un temperatūra var ietekmēt šo fermentatīvo noārdīšanos, kas savukārt var mainīt pH.

SECINĀJUMI

- FTIS spektros konstatētas muskuļaudu un šūnsulas makromolekulārā sastāva atšķirības starp kontroles paraugu, termiski apstrādātiem un augstspiedienā apstrādātiem paraugiem. Uzrādot olbaltumvielu otrējās struktūras un satura izmaiņas, šajos apstākļos notiek olbaltumvielu denaturācija un to izdalīšanās gaļas sulā.
- Augstspiediena apstrāde nemaina gaļas šķiedru formu un izmēru un aminoskābju sastāvu, bet šīs apstrādes ietekmē novērota taukskābju satura samazināšanās.
- Lietotā spiediena palielināšanās izraisa nebūtisku ($p > 0.05$) pH pieaugumu visos paraugos.
- HPP gaļas paraugu mitruma saturs samazinās neatkarīgi no izmantotā spiediena vai apstrādes laika. Palielinot spiedienu virs 300 MPa, gaļai palielinās ūdens saturēšanas spēja, 15 minūtes augstspiedienā apstrādātiem paraugiem tā ir izteiktāka nekā paraugiem, kas apstrādāti 1 minūti. Palielinot apstrādes laiku no 1 minūtes līdz 15 minūtēm neatkarīgi no izmantotā spiediena, samazinās ūdens izdalīšanās no gaļas parauga salīdzinājumā ar kontroles paraugu.

5. Krāsas komponentes L^* vērtības pieaugums novērots, spiedienam paaugstinoties robežās starp 100 un 400 MPa. Savukārt, salīdzinot vārītu gaļas paraugu un augstā spiedienā apstrādātus paraugus, nav konstatētas atšķirības krāsas komponentes L^* vērtībās ($p < 0.05$).
6. Dzīvotspējīgo mikroorganismu skaits samazinās, izmantojot HPP apstrādi virs 300–400 MPa neatkarīgi no apstrādes laika.
7. Augstspiedienā apstrādātu cūkgaļu karsējot 60 °C un 80 °C temperatūrā, termiskās apstrādes zudumi ir būtiski atšķirīgi ($p < 0.05$), bet karsēšanas beigās abās temperatūrās konstatēti līdzīga apjoma zudumi.
8. Starp paraugu 600 MPa 15 min un pārējiem paraugiem pastāv būtiskas sīkstuma atšķirības ($p < 0.05$), ja tie karsēti 60 °C temperatūrā, bet 80 °C temperatūrā pastāv būtiskas atšķirības ($p < 0.05$) starp visiem paraugiem.
9. HPP spiediens un laiks būtiski neietekmē ($p > 0.05$) produktu sensoro īpašību – krāsas un aromāta – intensitāti, bet būtiski ietekmē ($p < 0.05$) sulīguma un sakošlājamības intensitāti.
10. Pievienojot mikrokapsulētu mārrutku sulu uzglabāšanas laikā līdz 14. dienai, MAFAm ir būtiski mazāks ($p < 0.05$) neapstrādātiem paraugiem. Savukārt 21. dienā būtiskas atšķirības ($p > 0.05$) starp tiem nav konstatētas.
11. Gaļas pH un krāsu komponetntes L^* vērtība būtiski ($p > 0.05$) atšķiras augstspiedienā apstrādātiem paraugiem.
12. Visu paraugu sīkstums uzglabāšanas laikā samazinās, bet starp paraugiem būtiskas atšķirības ($p < 0.05$) nav konstatētas.
13. Pētījumā iegūtie rezultāti apstiprina izvirzīto hipotēzi: izmantojot augstspiediena apstrādi, gaļas fizikālās, ķīmiskās un sensorās īpašības mainās atkarībā no apstrādes režīma.

TOPICALITY OF THE RESEARCH

Consumers today are paying more and more attention to nutrition information and the list of food ingredients on the packaging. By applying appropriate technological treatment, it is possible to avoid food additives used to extend the shelf life, while maintaining the nutritional value and sensory properties of the product, which are similar or identical to the raw, fresh product (Heinz & Buckow, 2010).

In high pressure processing (HPP), also known as cold pasteurization of food, the product is not heated. This type of treatment is used for both liquid and solid products such as meat, seafood, beverages, dairy products, fruits and vegetables (Tonello, 2011). HPP is currently one of the most successful heat treatment alternatives in the food industry. About 26–29% of industrial high pressure processing equipment is used in meat processing (Elamin et al., 2015; Ghalavand et al., 2015). HPP technology mainly is used for the processing of cut cooked meat, cooked meat products, raw beef products, dried products, sausages and semi-finished meat products without the addition of preservatives (Bolumar et al., 2015). HPP inactivates microorganisms and prolongs shelf life while maintaining the physico-chemical properties and quality of meat and meat products (Balasubramaniam & Farkas, 2008; Jofré & Serra, 2016; Xu et al., 2020). In addition, HPP has a great potential for the development of innovative products that require relatively low energy consumption. There is also the possibility of combining HPP technology with other food processing methods that would promote the development of the food industry (Hugas et al., 2002).

HPP is used more for the products that do not require further heat treatment, but relatively little information is available on the effects of high pressure on fresh meat, as well as processing regimes, to obtain a final product that satisfy consumer demands. Thus, the research on processes occurring in meat during HPP should be studied, selecting the optimum treatment conditions, which would allow achieving the positive effect.

The **hypothesis** of doctoral dissertation: the use of high-pressure processing causes changes in the physical, chemical and sensory characteristics of the meat depending on the treatment regime.

The hypothesis of the doctoral thesis is supported by the following **theses**.

1. High pressure processing has a significant effect on the pork meat water holding capacity, colour and protein structure.
2. The pH, moisture content, tissue microstructure and chemical composition of pork do not change during high pressure processing.
3. High pressure processing affects the dynamics of natural microflora (as total plate count) in pork.

4. When combining high pressure processing with heat treatment, the sensory and physical characteristics of the pork depend on the treatment mode.
5. In hurdle technology combining the high pressure processing with the addition of microencapsulated herb juice, it is possible to extend the shelf life of meat.

The **aim** of the doctoral thesis was to research and evaluate pork meat after the high pressure processing.

The following research **objectives** were set to achieve the aim of the doctoral thesis:

- 1) to analyse the impact of high pressure processing (HPP) modes on pork chemical composition and tissue microstructure;
- 2) to assess the physical and chemical characteristics of the high-pressure processed meat, as well as dynamics of aerobic and facultative anaerobic, mesophilic bacteria;
- 3) to evaluate effect of high pressure processing on pork physical attributes during its thermal treatment;
- 4) to perform sensory evaluation of HPP treated pork;
- 5) to evaluate the combined effect of micro-encapsulated horseradish juice and high pressure treatment on pork quality.

The **novelty and scientific significance** of the thesis:

- for the first time the study on the effect of high pressure processing on pork has been carried out in Latvia;
- the impact of high pressure treatment on pork physical and chemical characteristics, and sensory properties have been evaluated, as well as the optimal treatment regimes have been determined;
- the quality of the processed meat during storage has been evaluated;
- the role of micro-encapsulated horseradish juice in ensuring the quality of high-pressure pork has been evaluated.

The **economic significance** of the thesis:

- since meat is a perishable product, high pressure processing allows inactivation of microorganisms, thus extending the shelf life without further heat treatment;
- expanding the range of the supplied meat products;
- high pressure processing can provide consumers with an attractive minimally processed product having extended shelf life.

APPROBATION OF THE RESEARCH

The research results are **summarized and published** in 6 scientific issues, including 5 publications indexed in the international citation databases SCOPUS and Web of Science (see the list on pages 5–6).

The research results have been presented at 8 international scientific conferences and congresses in Estonia, Ireland, Latvia, and Portugal and two exhibitions in Latvia (see the list on pages 6–7).

MATERIALS AND METHODS

Time and place of the research

The research was conducted from September 2016 till February 2020 at the laboratories of Study and Research Centre of the Faculty of Food Technology of Latvia University of Life Sciences and Technologies, the Institute of Microbiology and Biotechnology of University of Latvia, the Institute of General Chemical Engineering of the Faculty of Materials Science and Applied Chemistry of Riga Technical University, and J.S. Hamilton Poland Sp. z o.o. testing laboratory.

Characteristics of materials

Object of the thesis is high pressure processed pork meat. Samples of chilled meat obtained from the longest lumbar muscle piece of the pig *Musculus longissimus lumborum* were used in the experiments. No breed, age, sex nor the further processing were recorded. Country of meat origin Latvia. The sample designations are summarized in Table 1.

Preparation of meat samples for high pressure processing. Chilled pork meat was cut into slices across the muscle fibre. Slices were divided into portions and vacuum packed in the polyamide / polyethylene (PA / PE) pouches. Pork samples were refrigerated at 4 ± 2 °C until high pressure processing on the same day.

Pork meat samples were *treated in a high pressure processor ISO-Lab S-FL-100-250-09-W* (Stansted Fluid Power Ltd., UK) with a pressure chamber of 2 L and the maximum operating pressure of 900 MPa. The pressure transmitting medium was a mix of propylene glycol with water (1:2 v/v) at room temperature. The vacuum packaged samples were subjected to one of the treatment pressures (from 50 till 600 MPa) for 1, 5, and 15 min, but the untreated sample was used as a control.

Research structure

The research was completed in three stages. In the **stage I** the effect of HPP on refrigerated pork was studied within pressure range form 50–500 MPa with a treatment time 1, 5 and 15 min. In this stage total plate count, physical and chemical analysis were performed, and dynamics of the quality parameters was studied depending on the applied pressure and time. The scheme of the first stage of the research is presented in Figure 1.

In the **stage II** the pressures of 300 MPa and 600 MPa for 1 and 15 minutes were applied. The structural scheme of the stage II is shown in

Figure 2. At this stage of the research, it was found out how the physical and chemical parameters of high pressure processed meat change after further heat treatment of samples. The heat treatment of the meat was performed at temperatures of 60 and 80 °C and then the changes in the physico-chemical parameters of the product were evaluated, taking into account the duration of the processing time (Fig. 2).

Heat treatment of the pork samples

Vacuum packed HPP pork meat samples were heat treated in an *AppliTek 21AT* water bath (HetoLabEquipment, Denmark):

- after the core temperature of the meat sample reached 80 ± 2 °C, the heating was continued for 3, 6, 9 and 12 minutes, then meat was rapidly chilled in ice-water till 10 ± 2 °C temperature;
- after the core temperature of the meat sample reached 60 ± 2 °C, the heating was continued for 30, 60, 90 and 120 minutes, then meat was rapidly chilled in ice-water till 10 ± 2 °C temperature.

The HPP samples for sensory evaluation were heat treated in the water bath *AppliTek 21AT* (HetoLabEquipment, Denmark) within the packaging at 80 ± 2 °C temperature, until the core temperature reached 80 °C and the cooking was continued for 10 minutes. After cooking, meat was rapidly chilled in ice-water till 10 ± 2 °C temperature.

In the **stage III** of the experiments, meat was studied, to which microcapsules of horseradish leaf and root juice were added before high pressure treatment. Based on the results obtained in the previous stages of the research, it was decided to use a 15-minute treatment at 300 MPa at this stage. The scheme of the stage III of the study is shown in Figure 3.

The amount of horseradish juice microcapsules added to the meat was calculated considering the experiments performed by other researchers. (Azman et al., 2015; Masoodi, 2016). In the current research, 1.3 g of microencapsulated horseradish juice or 0.13 g of microencapsulated horseradish leaf juice per 100 g of pork meat was added.

Methods used in the research

The methods used for analysis of pork quality parameters are summarized in Table 2.

Data analysis

Data analysis was performed with statistical software of *Microsoft Excel*. Mean value and standard deviation were determined from the experimental results. One-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey test for multiple comparison were used for data interpretation. The level of significance of the obtained data is characterized by p-value (if $p > 0.05$, the data do not differ significantly, if $p \leq 0.05$, the data differ significantly). Spectral data were processed using the deconvolution, hierarchical cluster analysis and integration (Opus 6.5, Bruker Optics, Germany), and two tailed t-test statistical analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

1. FTIR spectroscopy studies of high pressure induced changes in pork macromolecular structure

High-pressure processing can induce changes of the protein structure, the higher the pressure, the more pronounced change in meat protein. Spectra of muscles and juices showed the characteristic bands of lipids in the region of 3000–2800 cm⁻¹ assigned to C-H stretching, in the protein region 1700–1500 cm⁻¹ spectra showed typical Amide I (~1657 cm⁻¹) and Amide II (~1544 cm⁻¹) absorption bands. The most intensive absorption both in spectra of muscles and juices was detected in the protein region of 1700–1500 cm⁻¹.

By analysing the spectrum of **meat muscle tissue or meat juice, hierarchical cluster analysis (HCA)** easily separated the control sample and samples treated at 300 MPa and 600 MPa (Fig. 4).

The results obtained in the HCA show that the spectra of both muscle tissue and juice are similarly grouped in two subgroups. Muscle tissues subjected to 300 MPa pressure treatment are spectrally (structurally) similar to untreated muscle tissue and their differences increase with increasing time of HPP treatment from one to 15 minutes. By increasing the processing pressure from 300 to 600 MPa, the FTIR spectra of muscle tissue become more similar to those of heat-treated meat.

In **FTIR spectra of meat juice** samples - control, cooked and treated at 300 or 600 MPa for 1 or 15 min, the most intensive absorption was detected in the Amide I and Amide II bands region of 1500–1700 cm⁻¹. Increasing the HPP processing pressure to 600 MPa, in the protein-specific region, the absorption overlap is more pronounced and a wide absorption band with small peaks at 1653 cm⁻¹ (amide I) and 1600–1599 cm⁻¹ is seen, but the absorption peak of amide II almost disappears. Spectra of cooked meat juice in a protein region was very different and showed a broad band with only one absorption maximum at 1598 cm⁻¹. The shape of the Amide I and Amide II band of globular proteins is characteristic of their secondary structure. In juice samples treated at 600 MPa, these changes of both Amide band shapes, frequencies and the minimum between Amide bands, compared to those of control, indicated changes of the protein secondary structure and changes of the proportion and content of protein secondary structures, α -helix and β -sheet (Fig. 5).

FTIR spectroscopy of pork muscle tissue with increasing pressure and HPP treatment time show differences (Fig. 5) in the spectra of Amide I (1655 cm⁻¹) and Amide II (1548 cm⁻¹) absorption bands compared to the control samples. Amide I and II peaks become wider and the absorption intensity between them is equalized. Overall the spectra of control muscle and

HPP at 300 MPa showed distinct Amide I (1655 cm^{-1}) and Amide II (1548 cm^{-1}) absorption bands with slight increase of the minimum between both Amide bands depending on the pressure and exposure time, whereas in samples treated at 600 MPa, the two amide bands strongly overlapped. In spectra of cooked meat muscle, the maximum of Amide I band shifted to 1627 cm^{-1} . Since the shape of Amide peaks is a direct result of the protein secondary structure, the deconvolution of amide peaks in the 2nd derivative spectra it is possible to detect HPP induced changes in protein structure.

2. Effect of high pressure processing on total plate count in pork and influencing factors

Changes in the number of viable microorganisms (total plate count – TPC) in pork after HPP treatment are shown in Fig. 6. Individual microorganism species were not evaluated in the study.

The total plate count determined in vacuum packed chilled pork was $2.99\log_{10}\text{ CFU g}^{-1}$ for the control sample. Microorganisms in meat demonstrated resistance up to 300 MPa irrespective of treatment time. After undergoing high pressure treatment above 300 MPa, a significant ($p < 0.05$) decrease of microorganisms was observed. Also other authors reported similar results with microbial inactivation at the range of 400–600 MPa with short treatment duration (3–7 min) (Del Olmo et al., 2014). Similar to other studies (Simonin et al., 2012), it was confirmed that the TPC inactivation depends on the pressure applied. The TPC after the pressurization at 300 MPa for 1 min was at the same level as in untreated control sample, being approximately $3.14\log_{10}\text{ CFU g}^{-1}$. But it was significantly reduced after treatment at 500 MPa for 1 min to $2.17\log_{10}\text{ CFU g}^{-1}$, 5 min – $1.77\log_{10}\text{ CFU g}^{-1}$, 15 min – $2.33\log_{10}\text{ CFU g}^{-1}$.

Nevertheless, results of the total plate count had no significant ($p > 0.05$) difference between samples exposed to pressure for different duration of time. It shows that the lethality of microorganisms was more dependent on pressure applied not on the duration, the sample was exposed to pressure.

Microorganisms are the most pressure-resistant at a neutral pH and become more sensitive as the pH reduces. In the current research it was determined that pH of chilled pork meat was 5.51 ± 0.06 , while this value slightly decreased for meat after it was vacuum packed and reached 5.42 ± 0.06 . Typical pH value for fresh meat did not change significantly ($p > 0.05$) after treatment within the pressure interval from 50–200 MPa for 1–5 minutes.

High-pressure treatment of meat can cause a reversible decrease in pH due to changing dissociation constants of acids and bases (Stippl et al., 2004). Increasing the pressure used in pork processing causes a negligible ($p > 0.05$)

increase in pH (Fig. 6). Comparing different exposure times, it was observed that the pH of all meat samples tended to increase, however, the differences were not significant ($p > 0.05$).

The average water activity of the chilled pork used in the experiments was 0.940 ± 0.05 . No significant differences in water activity ($p > 0.05$) were observed between high-pressure treated pork samples with different exposure times.

3. Effect of high pressure processing on physical and chemical attributes of raw pork meat

Research has shown that high pressure significantly affects the properties of microfibrillar proteins, such as solubility (Chapleau et al., 2003a; Chapleau et al., 2004; Gaoshang et al., 2019), as well as their ability to bind water and form gels. Such functional properties are related to the meat texture and the water holding capacity (Duranton et al., 2012).

Microscopy of histological samples showed that the fibre size in untreated pork (control sample) was slightly smaller compared to high pressure treated samples. After HPP treatment fibre cross section area was slightly increased which correlates with improved water holding capacity. It can be related to the protein denaturation. Fig. 7 shows the histological and ESEM cross sections of pork muscle tissue (the connective tissue is light, the fibre are dark).

There was not observed statistically significant ($p > 0.05$) differences in fibre cross section area and extracellular space. It indicates that observed muscle structures retained their shape after pressurization. Zhang et al. (2018) described the transformation of the quaternary, tertiary, and secondary structures of proteins that alter both the texture and functions of meat. This effect can usually be achieved at pressures of 200 MPa and higher.

Studies have shown that the use of high pressure reduces the moisture content of pork, but the changes do not depend on the pressure used or the processing time. No significant differences between meat samples ($p > 0.05$) were observed when using pressure with different holding times. The effect of pressure on water is mainly manifested by an increase in ionization, which causes a decrease in pH under pressure.

Studies have shown that a greater increase in water holding capacity (WHC) was observed for samples treated for 15 minutes compared to samples treated for 1 minute. Under pressure, the most significant changes occur in meat sarcoplasm and myofibrillar proteins, which are sensitive to the denaturation (Fig. 8).

Protein denaturation occurs during processing. It influences factors that increase the pH of the meat and the electrostatic conversion of proteins, which in turn reduces the release of water from the meat (Guyon et al., 2016).

In turn, centrifugation of pork samples shows that a larger amount of released water was present in the control sample ($16.00 \pm 2.98\%$) and it was about five times higher than in HPP samples (Fig. 9). Among HPP samples, the highest water holding capacity was for the pork sample 300/15, as it had the lowest amount of expressible water ($1.8 \pm 0.55\%$), but the lowest WHC was found for sample 300/1. Processing time did not affect the amount of expressible water when treated at a high pressure of 600 MPa because pressures above 300 MPa lead to more pronounced protein denaturation and protein electrostatic conversion, resulting in a reduced water release from meat (Guyon et al., 2016). The differences between the control sample and the HPP samples are significant ($p < 0.05$).

Experiments revealed that regardless of the pressure or time used, no significant differences were found in the amount of expressible water between the HPP samples treated ($p > 0.05$).

HPP did not change pork meat colour at the pressures of 50–100 MPa, and the change in colour in this pressure range depends on the exposure time (Fig. 10). However, as the pressure increased from 100 to 400 MPa, the colour component L* value increased.

Changes in the value of the colour component L* did not depend on the treatment time, but depended on the treatment pressure ($p < 0.05$). As explained by Guyon et al. (2016), this is related to the protein coagulation, which affects the sample texture and surface properties, or the denaturation of the globulin and displacement or release of the heme group.

An increase in the colour component L* value is observed both after heat treatment and after high pressure treatment (Fig. 11). The colour of the meat after HPP treatment was similar to the colour of cooked meat. Several studies by other scientists showed that the pressure limit is 300–400 MPa when the meat turns pale. These changes are irreversible.

Amino acid content. It was experimentally determined that the amino acid content of high-pressure treated meat did not differ significantly ($p > 0.05$), regardless of the applied pressure and processing time.

The total content of amino acids found in raw meat was $21.67 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ in the current research, but in processed meat it ranged from $22.57 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ to $23.31 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$. Irrespective of the applied pressure and processing time, the amino acid content in meat did not differ significantly ($p > 0.05$). High pressure denaturation of proteins is a complex process caused by hydrophobic bonds. Under high pressure, the intermolecular balance changes, which in turn affects protein interactions. Pressure-induced protein denaturation depends on such factors as temperature, pH, ionic strength, pressure-time ratio (Chapleau et al., 2004) (Table 3).

Fatty acid composition is one of the most important indicators, changes in which during high-pressure processing can negatively affect the sensory properties and nutritional value of meat (Wood et al., 2008).

The samples treated under high pressure showed a common trend – a decrease in fat content. This could be explained by small release of fat from the meat under the influence of pressure, which is also indicated by the FTIR spectra of meat juice (Sazonova et al., 2019b).

4. Effects of heat treatment on high pressure processed pork cooking loss, sensory and physical attributes

The cooking loss of pork was affected by both processing time and pressure, but as the temperature raised to 80 °C, these differences decreased (Fig. 12).

During the HPP-induced denaturation process, meat proteins may dissolve or precipitate depending on the pressure used (Sun & Holley, 2010). Meat proteins are denatured during heat treatment, leading to structural changes in the meat, such as rupture of cell membranes, disintegration of meat fibers, accumulation and formation of miofibrillar and sarcoplasmic proteins, and decreased connective tissue solubility (Latif, 2010).

When high-pressure treated pork was heated at 60 °C and 80 °C, cooking losses differed significantly in different time periods ($p < 0.05$). In general, there was a gradual increase in cooking losses with increased treatment time. On the other hand, at the end of the heat treatment, samples treated at both temperatures showed similar results. However, the performed calculations did not show significant differences at 120 and 12 minutes of treatment ($p = 0.717$).

Summarizing the results on the changes in the hardness of cooked high-pressure processed meat, it was found that when heated at 60 °C, there are significant differences ($p < 0.05$) between the sample 600/15 and the other samples. On the other hand, when heated at 80 °C, significant differences ($p < 0.05$) occur between all samples (Fig. 13).

During the heat treatment, part of the insoluble meat protein is converted into soluble protein, the degree of denaturation depends on the degree of maturation or temperature reached, the heating time and the pH of the meat. The higher the temperature reached and the longer the meat is held at that temperature, the higher the degree of denaturation. As a result of denaturation, the meat becomes firm and dense (Sun & Holley, 2010). The texture of cooked meat is associated with changes in connective tissues and collagen properties upon heat treatment (Chang et al., 2011).

Changes in sensory and physical properties of pork during high pressure treatment. The intensities of sensory properties determined in the sensory evaluation (Table 4) were selected taking into account the most important meat quality indicators based on Bak et al. (2012) and Reed et al. (2017).

Summarizing the obtained results, it can be concluded that there are no significant differences in the intensity of colour ($p = 0.307$) and aroma ($p = 0.864$) between the samples. However, there are significant differences between the samples in their juiciness ($p = 0.003$) and chewiness ($p = 0.000$), which are more influenced by the processing pressure than by time.

Evaluation of colour intensity. The colour of samples coked after HPP no longer showed significant differences in colour. The colour scores ranged from 2.07 to 2.37, being close to light colour. Thus, colour changes in the high pressure processing step are not relevant if a product is further heat treated. After the heat treatment, the final products had a uniform colour, typical of cooked meat. Colour value component L^* was on average 71.47; $a^* = -1.1$; $b^* = 14.42$. Also, an instrumental measurement of the colour did not show significant differences ($p = 6.964$).

Evaluation of flavour intensity. The panellists evaluated the intensity of meat flavour, which plays an important role in the acceptance and preferences of consumers. No significant differences were established among the evaluated samples ($p > 0.05$). The flavour of all the samples on the 5-point scale was estimated to be within the range 2.67–2.90, which is in the middle “neither weak, nor intense”. Meat has its flavour and taste derived from volatile aroma constituents, which results from thermally induced reactions, not from HPP treatment.

Evaluation of juiciness intensity. Sensory evaluation results showed that the pork samples that have undergone treatment at 600 MPa were scored as drier (1.70–2.33), comparing to the control sample or the samples treated at 300 MPa. The sensory results had a moderate correlation ($r = 0.619$) with the results of instrumental measurements, which indicated lower moisture content (Fig. 14) in both samples treated for longer time (15 min compared to 1 min) irrespective of applied pressure. The calculations showed significant differences only for the cooked sample 600/15 ($p < 0.05$), which is in agreement with sensory evaluation of juiciness, which was assessed at a five-point scale with 1.70 being closer to dry. During heat treatment, the muscles lose water, but the proteins become less flexible and tougher.

Evaluation of texture intensity.

Sensory evaluation results showed that between the sensory properties of the samples – juiciness and chewiness exist a strong correlation ($r = 0.943$). The samples treated at 600 MPa according to the sensory evaluation were less juicy. The chewiness of these samples was assessed as poor - respectively, these samples were tough. The samples treated for 1 min received chewiness intensity score – 1.83, but the sample treated for 15 min – 1.33. These results indicate that less juicy samples are harder to chew, and may have a harder texture. It should be noted that the data obtained in the sensory evaluation do not agree with the results obtained by analysing the consistency of the samples with the instrumental method – texture profile analysis (TPA).

An increase in a processing time from 1 to 15 min, both at pressure 300 MPa and pressure 600 MPa the samples showed a significant difference between gumminess ($p=0.043$ and $p=0.004$), and chewiness ($p=0.042$ and $p=0.001$). In contrast, regardless of time and pressures applied, there is no significant difference between gumminess ($p=0.60$ and $p=0.539$), and chewiness ($p=0.121$ and $p=0.198$)

When measuring the texture of pork samples using Warner-Bratzler shear device a significant difference between the analysed samples ($p=0.010$) was observed, the higher the treatment pressure applied, the greater the force must be applied to cut the meat (Fig. 15).

Accordingly, the toughness of the meat samples increased when higher pressure (600 MPa) was applied irrespective of the treatment time. This method correlated with the sensory evaluation results, when texture of pork became tougher with increased pressure. There was no significant difference between exposure times at the same pressure ($p > 0.05$).

5. Shelf life comparison of pork meat with added microencapsulated horseradish leaves and roots juice after HPP treatment

At the beginning of the experiment, the **TPC** in chilled pork was $1.99 \text{ lg CFU g}^{-1}$, but for the high-pressure control sample $1.75 \text{ lg CFU g}^{-1}$. During storage up to day 14, the TPC was significantly lower ($p < 0.05$) in HPP-treated samples than in untreated samples. On day 21, no significant differences ($p > 0.05$) were found between the samples.

As reported Garriga et al. (2002), this can be explained by the fact that the level of cell death of microorganisms in HPP samples increases in proportion to the increase in pressure, but this does not follow the first-order kinetics and sometimes occur at the end of the inactivation process. The most resistant microorganism cells as well as the damaged cells can recover during storage (Bozoglu et al., 2004) (Fig. 16).

At the beginning of the experiment, the **pH** of the meat was 5.44 ± 0.02 . The added microencapsulated horseradish leaf and root juice did not change the pH of the meat. On the other hand, when processing meat under high pressure, the pH increased. The performed statistical calculations showed significant differences ($p < 0.05$) between high-pressure treated and untreated samples. In contrast, there were no significant differences between the control sample and the samples treated with microencapsulated horseradish leaf and root juice ($p > 0.05$). This applies to both high-pressure treated and untreated samples.

The initial **water activity** (a_w) in chilled pork was 0.976 ± 0.05 . The dynamics of water activity during storage in a high-pressure treated sample

with microencapsulated horseradish leaf juice differed significantly ($p < 0.05$) from other samples. The sample L-300 had the lowest water activity during storage compared to other samples. No such changes were observed in the HPP samples.

Evaluation of **meat colour** showed that significant ($p < 0.05$) differences in the colour component L^* value exist between differently treated samples (Fig. 17). The change of the colour component did not depend ($p > 0.05$) on the added microencapsulated horseradish leaf and root juice or storage time, but on the treatment under high pressure, as a result of which the colour of the meat became paler. This is due to the fact that the protein myosin is sensitive to pressure and denatures at 180–300 MPa, obtaining a colour similar to cooked meat (Ma & Ledward, 2013).

The **moisture content** of chilled pork before storage was $69.83 \pm 1.21\%$. After adding microencapsulated horseradish leaves and root juice, the moisture content was $71.69 \pm 0.34\%$ and $72.53 \pm 0.19\%$, respectively. During storage, the moisture content of meat samples did not change significantly ($p > 0.05$). After 35 days, the moisture content of the vacuum packed control sample was $69.70 \pm 2.87\%$, for samples with microencapsulated horseradish leaf juice – $71.86 \pm 0.13\%$, but for samples with horseradish root juice – $71.19 \pm 0.19\%$. The moisture content of the HPP samples were as follows: for the control sample – $70.00 \pm 0.45\%$, for the sample with horseradish leaf juice – $70.16 \pm 0.59\%$ and for the sample with horseradish root juice – $71.80 \pm 0.27\%$.

It has been experimentally determined that during storage the meat toughness decreased, the meat became softer. This trend was observed for all samples, regardless of the type of treatment used or the additives added. This can be clearly seen in Fig. 18.

The performed calculations did not show significant differences ($p = 0.140$). According to the research of Olivera et al. (2013), after 24 h post-mortem glycogen degradation in muscle tissue, meat stiffness decreases. This degradation is caused by proteolytic enzymes such as calpain and liposomal proteases. Storage time and temperature can affect this enzymatic degradation which can further affect pH of meat.

CONCLUSIONS

1. FTIR spectra revealed differences between the control sample, heat treated and high pressure treated pork meat samples in their macromolecular composition of muscle tissue and juice. The changes in the secondary structure and content of the protein indicated that the denaturation of the protein and its release into the meat juice occurred under these conditions.

2. The high pressure treatment did not change the shape and size of the meat fibers and the amino acid composition, but a reduction in the fatty acid content was observed after this treatment.
3. An increase in the applied pressure caused a negligible ($p > 0.05$) increase in pH in all samples.
4. The moisture content of HPP meat samples decreased regardless of the pressure used or the treatment time. Increasing the pressure above 300 MPa the water holding capacity of meat increased, it was more pronounced for the samples treated for 15 minutes under high pressure than for the samples treated for 1 minute. Increasing the treatment time from 1 minute to 15 minutes, regardless of the pressure used, reduced the release of water from the meat sample compared to the control sample.
5. An increase in the colour component L* value was observed when the pressure increased between 100 and 400 MPa. On the other hand, comparing the cooked meat sample and the high pressure treated samples, no differences in the colour component L* values were established ($p > 0.05$).
6. The number of natural microflora (as total plate count) was reduced by HPP treatment above 300-400 MPa, regardless of the treatment time.
7. Heat treatment of the high pressure processed meat at 60 °C and 80 °C confirmed significantly different ($p < 0.05$) cooking losses during the process, but at the end of the heating similar losses were found at both temperatures.
8. There are significant differences in meat toughness ($p < 0.05$) between the sample treated at 600 MPa for 15 min and other samples, if they are heated at 60 °C, but at 80 °C there are significant differences ($p < 0.05$) between all samples.
9. HPP pressure and time did not significantly affect ($p > 0.05$) the intensity of pork meat sensory properties - colour and aroma, but it significantly affected ($p < 0.05$) the intensity of juiciness and chewiness.
10. When microencapsulated horseradish juice was added, the total plate count during storage until day 14 was significantly lower ($p < 0.05$) than in untreated samples. On the day 21, no significant differences ($p > 0.05$) were found between the tested samples.
11. The pH and the colour component L* value of pork meat differed significantly ($p > 0.05$) for the high pressure treated samples.
12. The hardness of all samples decreased during storage, but no significant differences ($p < 0.05$) were found between samples.
13. The results obtained in the study confirm the hypothesis: the use of high pressure processing changes the physical, chemical and sensory characteristics of the meat depending on the treatment regime.

Promocijas darba izstrāde līdzfinansēta no pētniecības programmas:

- Eiropas Sociālā fonda LLU projekts Nr. 8.2.2.0/18/A/014 „LLU akadēmiskā personāla pilnveidošana” (ES29),
- „Zinātniskās kapacitātes stiprināšana LLU” projekta Z-13 “Augstspiediena tehnoloģijas pielietošanas iespējas cūkgaļas kvalitātes uzlabošanai”,
- Valsts pētījumu programmas "Lauksaimniecības resursi ilgtspējīgai kvalitatīvas un veselīgas pārtikas ražošanai Latvijā (AgroBioRes) (2014–2018)".

Research was supported by the research programme:

- *European Social Fund LLU project Nr. 8.2.2.0/18/A/014 “Development of LLU Academic Staff” (ES29),*
- *“Strengthening Research Capacity in the LLU,” project Z-13 “Effect of High Pressure Processing on Pork Quality Indicators”,*
- *National research programme Agricultural Resources for Sustainable Production of Qualitative and Healthy Foods in Latvia (AgroBioRes) (2014–2018).*