

SYLWIA SKĄPSKA, BARBARA SOKOŁOWSKA,
MONIKA FONBERG-BROCZEK, JOLANTA NIEZGODA,
MARTA CHOTKIEWICZ, AGNIESZKA DEKOWSKA

ZASTOSOWANIE PASTERYZACJI WYSOKOCIŚNIENIOWEJ DO INAKTYWACJI PRZETRWAŁNIKÓW *ALICYCLOBACILLUS* *ACIDOTERRESTRIS* W SOKU JABŁKOWYM

Streszczenie

Acidotermofilne bakterie przetrwalnikujące *Alicyclobacillus acidoterrestris* (AAT) są przyczyną psucia soków owocowych i warzywnych. Proces pasteryzacji nie niszczy całkowicie przetrwalników tych bakterii, aktywując je jednocześnie do kiełkowania i dalszego wzrostu.

Celem pracy była ocena przydatności pasteryzacji wysokociśnieniowej do inaktywacji przetrwalników AAT w soku jabłkowym.

Scharakteryzowano wpływ ciśnienia hydrostatycznego 300 i 500 MPa stosowanego w temperaturze 50 °C, na przeżywalność przetrwalników ośmiu szczepów AAT w soku jabłkowym. Redukcja liczby przetrwalników po zastosowaniu ciśnienia 300 MPa przez 10 min wynosiła 1,27 - 3,46 log jtk/ml soku, w zależności od szczepu. Przedłużenie pasteryzacji do 30 min, zastosowane do dwóch najbardziej opornych szczepów, umożliwiło redukcję przetrwalników o 2,06 i 2,64 log jtk/ml. Dalsze zwiększenie ciśnienia do 500 MPa nie spowodowało istotnego zwiększenia skuteczności procesu pasteryzacji. Efektywniejsze okazało się zastosowanie ciśnieniowania pulsacyjnego. Stosowano sześć 5-minutowych cykli ciśnienia 100 MPa, 300 MPa i 500 MPa w temperaturze 50 °C. Największą redukcję liczby przetrwalników dwóch szczepów AAT, wynoszącą 2,40 i 3,11 log jtk/ml, uzyskano przy zastosowaniu ciśnienia 300 MPa. Ciśnieniowanie pulsacyjne (100 MPa, 50°C) połączone z godzinną inkubacją w temperaturze 50 °C i kolejnym etapem ciśnieniowania w 500 MPa spowodowało redukcję liczby przetrwalników o ponad 4 log jtk/ml.

Przetrwalniki AAT wykazywały oporność na działanie wysokiego ciśnienia hydrostatycznego przy parametrach stosowanych w niniejszej pracy.

Słowa kluczowe: *Alicyclobacillus acidoterrestris*, soki owocowe, pasteryzacja wysokociśnieniowa

Wprowadzenie

W 1982 r. stwierdzono pierwszy przypadek zepsucia aseptycznie pakowanego soku jabłkowego przez kwasolubne, termofilne bakterie przetrwalnikujące [4], które zostały wprowadzone do nomenklatury w roku 1992 jako nowy rodzaj *Alicyclobacillus* [28]. Obecność bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* stwierdzano w sokach i napojach otrzymywanych z różnych gatunków owoców i warzyw: w pomarańczowym, jabłkowym, grejpfrutowym, gruszkowym, z białych winogron, bananowo-morelowym, ananasowym, mango, pomidorowym i cytrynowym [2, 3, 6, 9, 20, 21, 24, 26, 27]. Bakterie *Alicyclobacillus* izolowano również z innych napojów np. z napoju izotonicznego [29], czy z „Ice tea” [2, 5].

Niekorzystne zmiany sensoryczne soków i napojów spowodowane są wytwarzanymi przez bakterie *Alicyclobacillus* związkami nadającymi tym produktom zapach określany jako medyczny, dezynfekcyjny, dymny. Związki te to przede wszystkim 2-metoksyfenol (gwajakol), oraz 2,6-dibromofenol i 2,6-dichlorofenol. Spośród aktualnie znanych dwudziestu gatunków bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* cztery: *Alicyclobacillus acidoterrestris*, *Alicyclobacillus herbarius*, *Alicyclobacillus acidiphilus* oraz niektóre szczepy z gatunku *Alicyclobacillus hesperidum* są zdolne do wytwarzania gwajakolu [16, 19, 20]. Gatunkiem najczęściej izolowanym z zepsutych soków jest *Alicyclobacillus acidoterrestris* (AAT). Przetrwalniki tego gatunku bakterii mają zdolność przeżywania w typowych warunkach pasteryzacji soków owocowych [2, 3, 22, 24]. Przykładowe, cytowane w literaturze, wartości D_{95} w sokach owocowych wyniosły od 1,85 min do 15,1 min [12, 23, 24].

Z uwagi na nieskuteczność procesu pasteryzacji w ograniczaniu wzrostu bakterii *Alicyclobacillus* podejmowane są badania nad nowymi metodami ich inaktywacji. Jednym z kierunków badań jest zastosowanie pasteryzacji wysokociśnieniowej (High Pressure Pasteurization - HPP). Technika wysokich ciśnień została zastosowana w skali przemysłowej po raz pierwszy w Japonii w roku 1990 do utrwalania dżemów, a następnie soków cytrusowych, dressingów i jogurtów. Od tego czasu nastąpił znaczny wzrost liczby przedsiębiorstw stosujących tę metodę na skalę przemysłową. I tak, w USA utrwała się w ten sposób soki jabłkowe, pomarańczowe, lemoniadę, ostrygi, plasterkowane wędliny, we Francji – soki cytrusowe, w Hiszpanii – plasterkowaną szynkę, w Meksyku – soki cytrusowe, w Portugalii – soki jabłkowe i cytrusowe, we Włoszech – sok jabłkowy, gruszkowy, truskawkowy i marchwiowy, w Czechach - sok brokułowo-jabłkowy. W Polsce zastosowanie wysokiego ciśnienia hydrostatycznego do utrwalania żywności pozostaje nadal w sferze badań [7, 8, 13, 15].

Celem niniejszej pracy była ocena przydatności pasteryzacji wysokociśnieniowej do inaktywacji przetrwalników *Alicyclobacillus acidoterrestris* w soku jabłkowym.

Material i metody badań

Badania przeprowadzono z wykorzystaniem przetrwalników pięciu szczepów AAT wyizolowanych z próbek zagęszczonego soku jabłkowego (szczepy oznakowane TO-29/4/02, TO-117/02, TO-224/1/05, TO-169/06 i U-44/25/06), szczepu wyizolowanego z zepsutego napoju pomarańczowego (szczep TO-41/06), z zagęszczonego soku pomarańczowego (szczep TO-27/2/07) oraz z emulsji do produkcji napojów (szczep TO-57/1/04). Do izolacji szczepów *Alicyclobacillus* zastosowano metodę zalecaną przez Internationale Fruchtsaft Union [11]. Szczepy zakwalifikowano do gatunku *Alicyclobacillus acidoterrestris* na podstawie ich zdolności do wytwarzania kwasu z erytritolu [1, 3] oraz do wytwarzania gwajakolu w pożywce YSG z kwasem wanilinowym [16, 17, 18].

W celu uzyskania przetrwalników szczepy inkubowano w temp. 45 °C przez 10 dni na podłożu PDA (Oxoid) o pH 4,0. Biomase bakterii zmywano z powierzchni agaru jałową wodą redestylowaną, a następnie wirowano przez 10 min przy 14 000 obr./min w temp. 4 °C. Osad przemywano trzykrotnie: jałową wodą redestylowaną, 50 % alkoholem etylowym i ponownie jałową wodą redestylowaną. Przygotowaną zawiesinę przechowywano w temp. 5 °C. Obecność przetrwalników w zawieszynie potwierdzano w preparatach mikroskopowych, barwionych metodą Schaeffera-Fultona w modyfikacji Wirtza. Liczbę przetrwalników oznaczano metodą płytkową na BAT-agarze (Merck, pH 4,0) po 5 dniach inkubacji w temp. 45 °C.

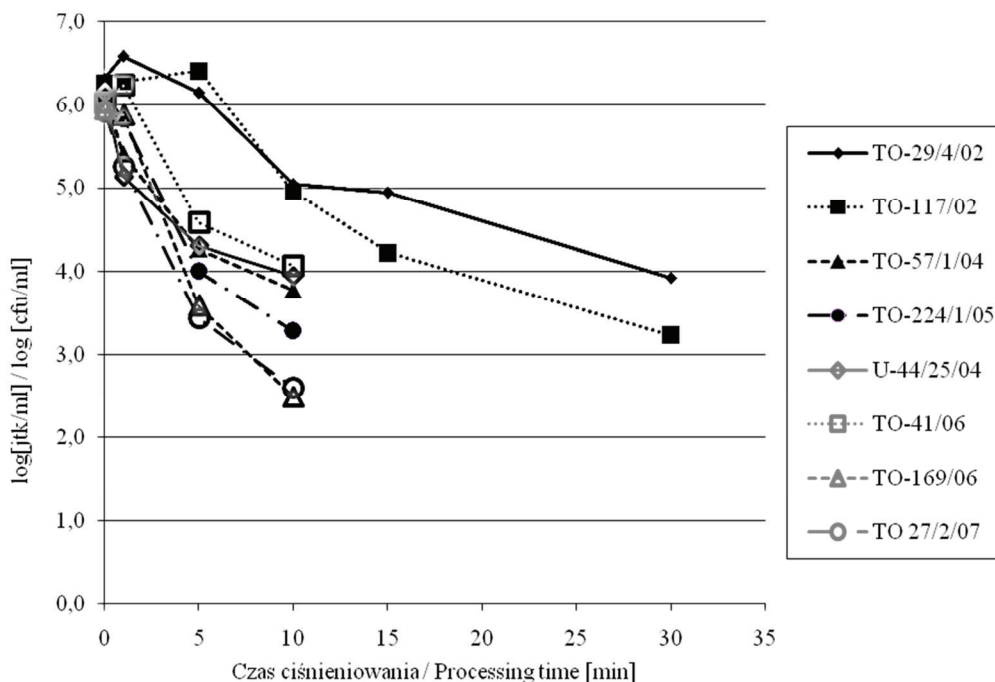
Przetrwalniki AAT wprowadzono do próbek handlowego soku jabłkowego (pH 3,4, ekstrakt 11,2 °Bx) w ilości powyżej 10⁶ jtk/ml i poddawano skojarzonemu działaniu ciśnienia hydrostatycznego oraz temperatury w komorze wysokociśnieniowej typu tłok-cylinder o objętości roboczej 1,5 litra, wyposażonej w mierniki ciśnienia i temperatury (w Instytucie Wysokich Ciśnień PAN w Warszawie). Ciśnienie w komorze – wyposażonej w zewnętrzny płaszcz termostatujący, pozwalający na stosowanie temperatury 0 - 50 °C – wytwarzane było przy użyciu prasy hydraulicznej 1000 ton. Jako medium ciśnieniowe stosowano mieszaninę wody z glikolem polipropylenowym (1 : 1). Ciśnienia 100 MPa, 300 MPa oraz 500 MPa aplikowano w sposób ciągły i pulsacyjny. Procesy prowadzono w ciągu 5 do 30 min w temp. 50 °C. Wszystkie doświadczenia wykonano w co najmniej w dwóch powtórzeniach. Liczbę przetrwalników przeżywających proces ciśnieniowania i zdolnych do wzrostu oznaczano metodą płytkową na BAT-agarze (Merck, pH 4,0) po 5 dniach inkubacji w temp. 45 °C.

Wyniki i dyskusja

W pracy scharakteryzowano wpływ wysokiego ciśnienia hydrostatycznego i temperatury na przeżywalność przetrwalników ośmiu szczepów *A. acidoterrestris* w soku jabłkowym. Redukcja liczby przetrwalników po zastosowaniu ciśnienia o wartości

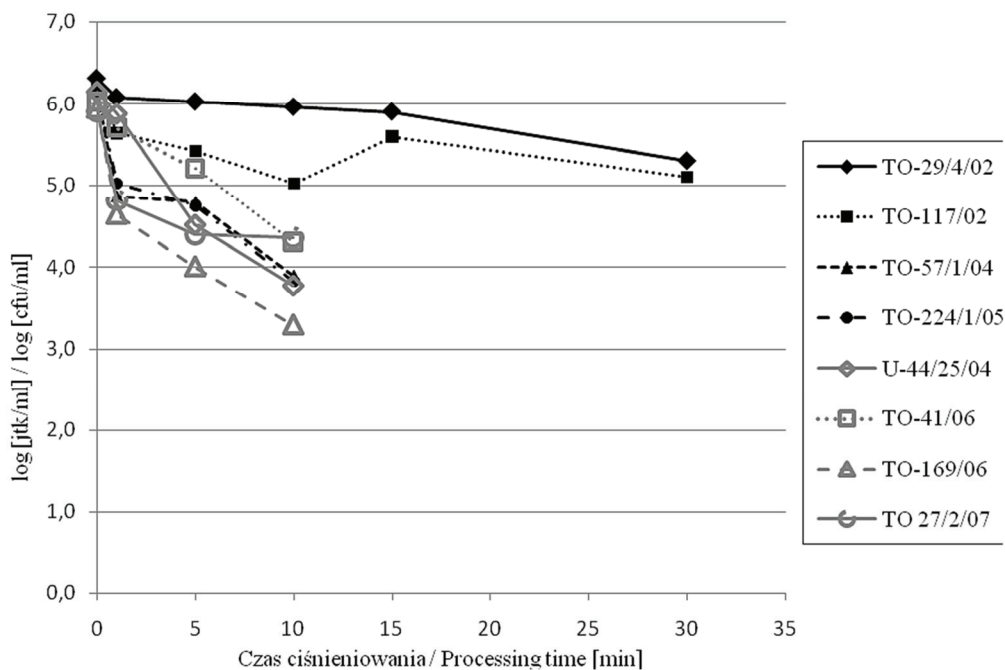
300 MPa w temp. 50 °C przez 10 min wyniosła 1,27 - 3,46 log jtk/ml soku, w zależności od szczepu (rys. 1). Przedłużenie do 15 min czasu pasteryzacji dwóch najbardziej opornych szczepów: TO-29/4/02 i TO-117/02 spowodowało zmniejszenie liczby przetrwalników o 1,04 i 1,66 log jtk/ml. Znacznie lepsze efekty osiągnięto przedłużając czas procesu do 30 min, co umożliwiło redukcję liczby przetrwalników o 2,06 i 2,64 log jtk/ml.

Zwiększenie wartości stosowanego ciśnienia do 500 MPa nie spowodowało wzrostu skuteczności procesu pasteryzacji (rys. 2). Redukcja liczby przetrwalników ośmiu badanych szczepów po 10 min ciśnieniowania wynosiła 0,35 - 2,66 log jtk/ml. Również przedłużenie czasu pasteryzacji, zastosowane w stosunku do dwóch najbardziej opornych szczepów, nie było skuteczne i spowodowało zmniejszenie liczby przetrwalników jedynie o 0,45 i 0,55 log jtk/ml po 15 min, a po 30 min redukcja wynosiła 1,06 i 1,05 log jtk/ml.



Rys. 1. Przeżywalność przetrwalników szczepów *Alicyclobacillus acidoterrestris* poddanych działaniu ciśnienia 300 MPa w temp. 50 °C.

Fig. 1. Survival of spores of *Alicyclobacillus acidoterrestris* strains treated using 300 MPa pressure at 50° C.



Rys. 2. Przeżywalność przetrwalników szczepów *Alicyclobacillus acidoterrestris* poddanych działaniu ciśnienia 500 MPa w temp. 50 °C.

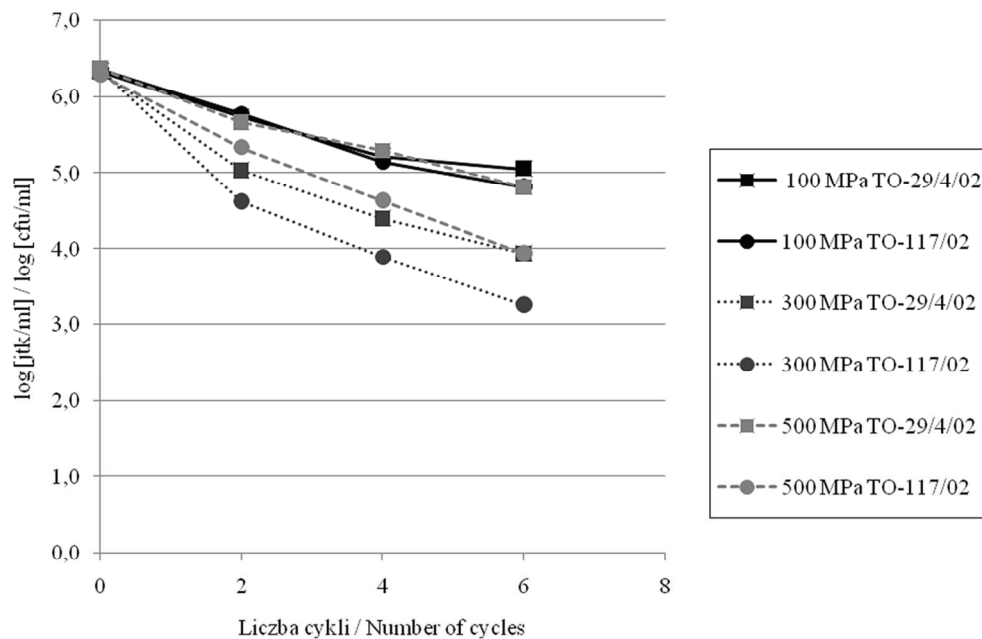
Fig. 2. Survival of spores of *Alicyclobacillus acidoterrestris* strains treated using 500 MPa pressure at 50 °C.

Jak wykazali Lee i wsp. [14], do inaktywacji przetrwalników AAT w soku jabłkowym niezbędne było zastosowanie połączonego działania wysokiego ciśnienia i temperatury. Inaktywację przetrwalników w soku jabłkowym do poziomu <1 jtk/ml (o ponad 5,5 log jtk/ml) uzyskano po zastosowaniu ciśnienia 207 MPa przez 5 min w temp. 90 °C, ciśnienia 414 MPa lub 621 MPa w temp. 71 °C przez 10 min lub w temp. 90 °C przez 1 min. W warunkach naszego doświadczenia nie było możliwe osiągnięcie tak wysokich temperatur, stąd obserwowana redukcja liczby przetrwalników AAT nie była tak znaczna.

Vercammen i wsp. [25], w badaniach prowadzonych w zakresie ciśnień 100 - 800 MPa, przy pH 4 - 7, w temp. 25, 40 i 60 °C, z wykorzystaniem buforów i sosu pomidorowego jako medium, wykazali, że niskie pH sprzyjało redukcji przetrwalników AAT. W niższej temperaturze największą redukcję umożliwiało zastosowanie stosunkowo niskiego ciśnienia 100 - 300 MPa, natomiast przy wyższych ciśnieniach skuteczniejszą inaktywację uzyskiwano w wyższej temperaturze. Obserwowana w niniejszej pracy większa inaktywacja przetrwalników AAT w soku jabłkowym o pH

3,4 i przy zastosowaniu ciśnienia 300 MPa aniżeli w warunkach ciśnienia 500 MPa i temp. 50 °C jest zgodna z powyższymi wynikami.

Efektywniejsze od ciśnieniowania stałego okazało się ciśnieniowanie pulsacyjne przetrwalników AAT (rys. 3). Stosując sześć 5-minutowych cykli ciśnienia o wysokości 100 MPa w temp. 50 °C, uzyskano redukcję liczby przetrwalników dwóch najbardziej opornych szczepów AAT o 1,28 i 1,54 log jtk/ml, a przy ciśnieniu 300 MPa - o 2,40 i 3,11 log jtk/ml. Zwiększenie ciśnienia do 500 MPa, w tych samych warunkach, spowodowało zmniejszenie liczby przetrwalników o 1,56 i 3,36 log jtk/ml.



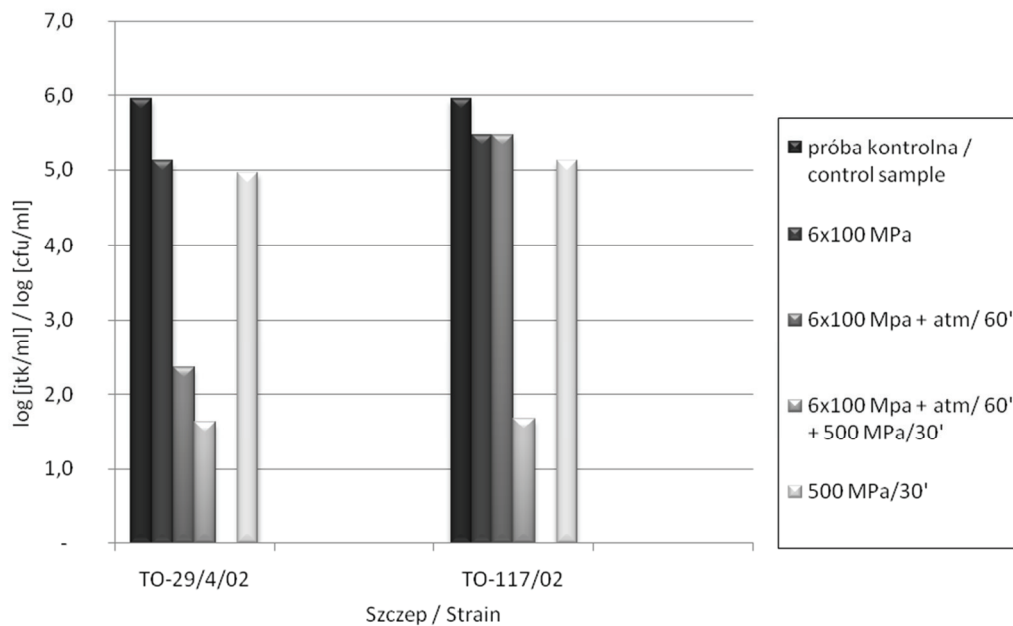
Rys. 3. Przeżywalność przetrwalników *Alicyclobacillus acidoterrestis* poddanych działaniu ciśnienia pulsacyjnego (cykl: HPP – 5 min, ciśnienie atmosferyczne – 5 min) w temp. 50 °C.

Fig. 3. Survival of spores of *Alicyclobacillus acidoterrestis* strains treated using pulsed pressure (cycle: HPP - 5 min, atmospheric pressure - 5 min) at 50° C.

Najskuteczniejsza okazała się metoda kombinowana, polegająca na zastosowaniu ciśnieniowania pulsacyjnego (6 x 100 MPa/50 °C/5 min) połączonego z godziną inkubacją w temp. 50 °C, a następnie ciśnieniowaniem w 500 MPa/50 °C/30 min. Ten sposób prowadzenia procesu, sprzyjający przejściu przetrwalników w bardziej wrażliwą na działanie ciśnienia i temperatury formę wegetatywną, pozwolił na redukcję liczby przetrwalników AAT o ponad 4 log jtk/ml (rys. 4). Na rysunku dla porównania przedstawiono efekt działania ciśnienia 500 MPa w temp. 50 °C przez 30 min.

W literaturze brak jest danych dotyczących zastosowania ciśnienia pulsacyjnego do inaktywacji przetrwalników AAT, natomiast z powodzeniem stosowano ciśnienia

pulsacyjne do inaktywacji przetrwalników *Bacillus stearotherophilus* [10]. Sześć 5-minutowych cykli ciśnienia 400 MPa w temp. 70 °C powodowało redukcję liczby przetrwalników tych bakterii o 4 log, a zastosowanie ciśnienia 600 MPa, w tej samej temperaturze, umożliwiło ich redukcję o ponad 6 log.



Rys. 4. Przeżywalność przetrwalników *Alicyclobacillus acidoterrestris* poddanych działaniu kombinacji ciśnienia pulsacyjnego (cykl: HPP – 5 min, ciśnienie atmosferyczne – 5 min) i ciśnienia stałego po godzinnej inkubacji w temp. 50 °C.

Fig. 4. Survival of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores treated using combined pulsed pressure (cycle: HPP - 5 min, atmospheric pressure - 5 min) and continuous pressure following one hour incubation at 50° C.

W zastosowanych w niniejszej pracy warunkach ciśnieniowania nie osiągnięto całkowitej redukcji przetrwalników *A. acidoterrestris*, zapewniającej trwałość soku jabłkowego. Prace zmierzające do optymalizacji procesu pasteryzacji wysokociśnieniowej będą kontynuowane z zastosowaniem niższych ciśnień.

Wnioski

1. Stopień inaktywacji przetrwalników badanych szczepów *Alicyclobacillus acidoterrestris* w wyniku działania wysokiego ciśnienia 300 lub 500 MPa był zróżnicowany i zależał od szczepu.

2. Większą redukcję liczby przetrwalników uzyskano stosując ciśnienie 300 MPa niż przy wyższym ciśnieniu 500 MPa.
3. Pod względem aplikacyjnym efekty działania wysokiego ciśnienia, stosowanego zarówno w sposób ciągły, jak i pulsacyjny, nie były zadowalające.
4. Znacznie bardziej efektywny był proces ciśnieniowania łączący działanie niskiego ciśnienia pulsacyjnego, pobudzającego kiełkowanie przetrwalników, z wysokim ciśnieniem powodującym ich inaktywację.

Praca finansowana ze środków MNISW, projekt badawczy N N312 429337.

Literatura

- [1] Baumgart J.: Media for the detection and enumeration of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and *Alicyclobacillus acidocaldarius* in foods. In: Handbook of Culture Media for Food Microbiology. Progress in industrial microbiology vol. 37. J.E.L. Corry, G.D.W Curtis, R.M. Baird. Eds. Elsevier. Amsterdam, 2003, pp. 161-166.
- [2] Baumgart J., Husemann M., Schmidt C.: *Alicyclobacillus acidoterrestris*: Vorkommen, Bedeutung und Nachweis in Getränken und Getränkegrundstoffen. Fluss. Obst, 1997, **64** (4), 178-180.
- [3] Baumgart J., Menje S.: The impact of *Alicyclobacillus acidoterrestris* on the quality of juices and soft drinks. Fruit Process., 2000, **10** (7), 251-254.
- [4] Cerny G., Hennlich W., Poralla K.: Fruchtsaftverderb durch bacillen isolierung und charakterisierung des verderbserregers. Z. Lebensmitt. Untersuch. Forsch., 1984, **179**, 224-227.
- [5] Duong H.A., Jensen N.: Spoilage of iced tea by *Alicyclobacillus*. Food Australia, 2000, **52** (7), 292.
- [6] Eguchi S. Y., Manfio G.P., Pinhatti M.E., Azuma E., Variane S.F.: Acidotermofilic sporeforming bacteria (ATSB) in orange juices: ecology, and involvement in the deterioration of fruit juices – Report of the Research Project, Part II. Fruit Process., 2001, **11** (2), 55-62.
- [7] Fonberg-Broczek M., Arabas J., Kostrzewa E., Rejs A., Szczawiński J., Szczepek J., Indyga B., Porowski S.: High-pressure treatment of fruit, meat and cheese products – equipment, methods and results. In: Processing Foods, Quality Optimization and Process Assessment. Oliveira F.A.R., Oliveira J.C., Eds. CFR Press, Boca Raton, 1999, pp. 281-300.
- [8] Fonberg-Broczek M., Windyga B., Prestamo G., Scieżyńska H., Grochowska A., Górecka K.: Zastosowanie metody wysokich ciśnień (HHP) do pasteryzacji świeżo wyciskanych soków. Bromat. Chem. Toksykol., 2006, **39** Supl., 129-133.
- [9] Gouws P.A. Gie L., Pretorius A., Dhansay N.: Isolation and identification of *Alicyclobacillus acidocaldarius* by 16S rDNA from mango juice and concentrate. Int. J. Food Sci. Technol., 2005, **40**, 789-792.
- [10] Hayakawa I., Kanno T., Yoshiyama K., Fujio Y.: Oscillatory compared with continuous High Pressure Sterilization on *Bacillus stearothermophilus* spores. J. Food Sci., 1994, **59** (1), 164-167.
- [11] IFU Method No 12, September 2004/ revised march 2007. Method on the Detection of taint producing *Alicyclobacillus* in Fruit Juices.
- [12] Komitopoulou E., Boziaris I.S., Davies E.A. Delves-Broughton J., Adams M. R.: *Alicyclobacillus acidoterrestris* in fruit juices and its control by nisin. Int. J. Food Sci. Technol., 1999, **34**, 81-85.
- [13] Kostrzewa E., Fonberg-Broczek M., Jakubowski J., Skąpska S., Sieliwanowicz B., Witkowska-Gwiazdowska A., Zdziennicka D., Arabas J., Szczepek J.: The Apple Juice Preserved by High Pressure Treatment At Moderate Temperature and Pasteurisation. Comparative Quality Assessment. In:

- High Pressure Effect in Chemistry, Biology and Materials Science, Defect and Diffusion Forum. Lojkowski W. Eds. Scitec Publications Ltd, Switzerland. 2002, **208-209**, 77-82.
- [14] Lee S.Y., Dougherty R.H., Kang D.H.: Inhibitory effect of high pressure and heat on *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in apple juice. Appl. Environ. Microbiol., 2002, **68**, 4158-4161.
- [15] Malinowska-Pańczyk E., Kołodziejaska I.: Wpływ połączonego działania wysokiego ciśnienia i innych czynników na mikroorganizmy. Med. Wet. 2007, **63 (5)**, 515-518.
- [16] Niwa M.: Control of hazardous bacteria in acidic beverages by using a guaiacol detection kit (peroxidase method). Fruit Process., 2005, **15 (6)**, 388-392.
- [17] Niwa M., Kawamoto A.: Development of a rapid detection method of *A. acidoterrestris*, hazardous bacteria to acidic beverage. Fruit Process., 2003, **13 (2)**, 102-107.
- [18] Niwa M., Kuriyama A.: *A. acidoterrestris* Rapid detection kit. Fruit Process., 2003, **13 (5)**, 328-331.
- [19] Orr R.V., Shewfelt R. L., Huang C.J., Tefera S., Beuchat L.R.: Detection of guaiacol produced by *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple juice by sensory and chromatographic analyses, and comparison with spore and vegetative cell populations. J. Food Protect., 2000, **11**, 1517-1522.
- [20] Pettipher G.L., Osmundson M.E., Murphy J.M.: Methods for the detection and enumeration of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and investigation of growth and production of taint in fruit juice and fruit juice-containing drinks. Lett Appl. Microbiol., 1997, **24**, 185-189.
- [21] Pinhatti M.E.M.C., Variane S., Eguchi S.Y., Manfio G.P.: Detection of acidotermophilic bacilli in industrialized fruit juices. Fruit Process., 1997, **7 (9)**, 350-353.
- [22] Silva F.V.M., Gibbs P., Silva C.L.M.: Establishing a new pasteurization criterion based on *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores for shelf-stable high – acidic fruit products. Fruit Process., 2000, **10 (4)**, 138-141.
- [23] Sokołowska B., Łaniewska-Trokenheim L., Niezgodna J., Bytońska M.: Ciepłooporność przetrwalników *Alicyclobacillus acidoterrestris*. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2008, **12**, 22-27.
- [24] Splittstoesser D.F., Churey J.J., Lee C.Y.: Growth characteristic of aciduric sporeforming bacilli isolated from fruit juices. J. Food Protect., 1994, **57 (12)**, 1080-1083.
- [25] Vercammen A., Vivijs B., Lurguin I., Michels C.W.: Germination and inactivation of *Bacillus coagulans* and *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores by high hydrostatic pressure treatment in buffer and tomato sauce. Int. J. Food Microbiol., 2011, doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.019
- [26] Walls I., Chuyate R.: Spoilage of fruit juices by *Alicyclobacillus acidoterrestris*. Food Australia, 2000, **2 (7)**, 286-288.
- [27] Witthuhn R.C., Duvange W., Gouws P.A.: Isolation and identification of species of *Alicyclobacillus* from South African fruit juices and concentrates. 21nd Int. ICFMH Symp. Food Micro, Bologna, 29.08 – 2.09.2006, p. 390.
- [28] Wisotzkey J.D., Jurtshuk P., Fox G.E., Deinhard G., Poralla K.: Comparative sequence analysis on the 16S rRNA (rDNA) of *Bacillus acidocaldarius*, *Bacillus acidoterrestris* and *Bacillus cycloheptanicus* and proposal for creation of a new genus, *Alicyclobacillus* gen. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 1992, **42 (2)**, 263-269.
- [29] Yamazaki K., Murakami M., Kawai Y., Inoue N., Matsuda T.: Use of nisin for inhibition of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in acidic drinks. Food Microbiol., 2000, **17**, 315-320.

**APPLICATION OF HIGH PRESSURE PASTEURIZATION TO INACTIVATE SPORES OF
ALICYCLOBACILLUS ACIDOTERRESTRIS IN APPLE JUICE**

S u m m a r y

Alicyclobacillus acidoterrestris (AAT), thermoacidophilic, and spore-forming bacteria cause fruits and vegetable juices to spoil. A pasteurization process does not completely destroy the spores of those bacteria, but it activates their germination and further growth.

The objective of this study was to assess the usefulness of high pressure pasteurization applied to inactivate AAT spores in apple juice.

There was described the effect of a 300 MPa and 500 MPa pressure at 50° C on the survival of spores of eight AAT strains in the apple juice. When a 300 MPa pressure was applied for 10 min, the number of living spores was reduced to 1.27 - 3.46 log cfu/ml of juice depending on the strain. When the pasteurization process was prolonged by 30 min. and applied to the two most resistant strains, it was possible to reduce the number of living spores to 2.06 and 2.64 log cfu/ml. The increasing of the pressure to 500 MPa did not cause the pasteurization process to become significantly more efficient. It was confirmed that the application of a pulsed high pressure was the most effective. There were applied six five-minute pressure cycles of 100 MPa, 300 MPa, and 500 MPa, at 50° C. The highest reduction in the number of spores of the two AAT strains amounting to 2.40 and 3.11 log cfu/ml was achieved when a 300 MPa pressure was applied. The application of a pulsed high pressure (100 MPa at 50° C), followed by one hour incubation at 50° C, and the subsequent application of high pressure (500 MPa) resulted in the reduction in the number of the spores by more than 4 log cfu/ml.

The AAT spores were resistant to the high hydrostatic pressure under the conditions as described in this study.

Key words: *Alicyclobacillus acidoterrestris*, fruit juices, high pressure pasteurization ☒