

WPLYW WYSOKIEGO CIŚNIENIA HYDROSTATYCZNEGO NA NATURALNĄ MIKROFLORĘ I BARWĘ SOKÓW Z WARZYW KORZENIOWYCH

**Barbara Sokołowska¹, Sylwia Skąpska¹, Monika Fonberg-Broczek², Jolanta Niezgoda¹,
Małgorzata Rutkowska², Marta Chotkiewicz¹, Agnieszka Dekowska¹, Natalia Dobros¹,
Sylwester J. Rzoska²**

¹Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego
Zakład Technologii Przetworów Owocowych i Warzywnych
ul. Rakowiecka 36
02-532 Warszawa

²Instytut Wysokich Ciśnień PAN
Laboratorium Biomateriałów
ul. Sokołowska 29/37, 01-142 Warszawa

Streszczenie

W pracy scharakteryzowano wpływ ciśnienia hydrostatycznego w wysokości 300 MPa, stosowanego w temperaturze 20°C, na przeżywalność naturalnej mikroflory soków z warzyw korzeniowych – marchwi, selera i buraków ćwikłowych. W zależności od rodzaju soku liczba drożdży zmniejszyła się od 2,65 do 5,17 log w czasie 10 min działania ciśnienia. Redukcja liczby pleśni wynosiła w tych samych warunkach od 2,00 do 3,30 log. W tych samych warunkach uzyskano również inaktywację liczby bakterii fermentacji mlekowej od 1,12 do 3,08 log. Ogólna liczba drobnoustrojów psujących ulegała redukcji o 4,15 log po 10 min działania ciśnienia. Zmiany poszczególnych parametrów barwy były niewielkie, ale istotne statystycznie, podczas gdy całkowita zmiana barwy ciśnieniowanych próbek soków była wizualnie słabo zauważalna.

Słowa kluczowe: wysokie ciśnienie hydrostatyczne, soki z warzyw korzeniowych, naturalna mikroflora soków, barwa

IMPACT OF HIGH HYDROSTATIC PRESSURE ON NATIVE MICROFLORA AND COLOUR OF ROOT VEGETABLE JUICES

Summary

The survival of the native microflora of root vegetable juices – carrot, beetroot and celery, treated with 300 MPa at 20°C was characterized. Count of yeasts decreased by 2,65-5,17 log after 10 min pressurization, depending on the type of juices. Reduction of moulds was 2,00–3,30 log in the same treatment conditions. Lactic acid bacteria inactivation reached 1,12–3,18 log. Reduction of total count of spoiling microorganism was 4,15 log after 10 min pressurization. Changes of individual colour parameters were small but

significant ($p < 0.05$), while the total colour changes were barely perceptible.

Keyword: high hydrostatic pressure, root vegetable juices, native microflora of juices, colour

WPROWADZENIE

Technologia utrwalania żywności wysokim ciśnieniem hydrostatycznym (HHP) pozwala na eliminację mikroorganizmów z produktów spożywczych i przedłużenie ich trwałości z zachowaniem naturalnego smaku i zapachu oraz walorów odżywczych. Wysokie ciśnienie nie oddziałuje na składniki niskocząsteczkowe, takie jak witaminy, barwniki czy związki aromatyczne. Technologia ta, zastępująca zabiegi termiczne, została sprawdzona w przemyśle spożywczym i szczególnie szerokie zastosowanie znalazła w utrwalaniu soków. W literaturze światowej wiele publikacji poświęcono inaktywacji enzymów i jakości fizykochemicznej soków poddawanych procesom ciśnieniowania oraz inaktywacji mikroflory, głównie wprowadzanej sztucznie do badanych soków [Ogawa i in. 1990, Basak, Ramaswamy 1996, Cano i in. 1996, Parish 1998, Rastogi i in. 1999, Zook i in. 1999, Kostrzewa i in. 2002, Basak i in. 2002, Bull i in. 2004, Voldrich i in. 2004, Bayindirich i in. 2006, Dede i in. 2007, Rodrigo i in. 2007, Barba i in. 2011].

Na polskim rynku dostępne są od kilku lat świeżo wyciskane, niepasteryzowane soki owocowe i warzywne. Deklarowana przez producentów przydatność do spożycia tych soków wynosi od 24 godzin do 3 dni w zależności od rodzaju soku. Soki te wymagają transportu i przechowywania w warunkach chłodniczych. Ze względu na brak obróbki termicznej zachowują one świeży smak i zapach, mogą jednak stanowić źródło niepożądanego mikroflory.

W latach 90. ubiegłego stulecia w USA i Kanadzie odnotowano zatrucia pokarmowe, także śmiertelne, po spożyciu surowych soków cytrusowych i jabłkowych. Przyczyną zachorowań były *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, *Bacillus cereus*, wirusy oraz pierwotniak jelitowy *Cryptosporidium parvum* [Vasavada 2003, Rajkowski, Baldwin 2003]. Do zakażenia dochodziło już w sadzie na skutek kontaktu owoców z odchodami zwierząt: jeleni, mew, bydła [Bell, Kyriakides 2002]. *Listeria monocytogenes*, mimo iż nie była przyczyną odnotowanych przypadków zatruc pokarmowych, była izolowana z niepasteryzowanego soku jabłkowego [Sado i in. 1998]. Niektóre szczepy *E. coli*, włącznie z patogennym serotypem O157:H7, są kwasooporne i mogą przeżywać przez długi czas w kwaśnych sokach, szczególnie w niskich temperaturach [Miller, Kaspar 1994].

Jak wynika z badań przeprowadzonych w Zakładzie Technologii Przetworów Owocowych i Warzywnych IBPRS [Sokołowska i in. 2011], obejmujących 9 rodzajów

niepasteryzowanych soków dostępnych na warszawskim rynku, największe zanieczyszczenie mikrobiologiczne występowało w sokach z warzyw korzeniowych – marchwi, marchwi i selera oraz z buraków i jabłek. Poziom zanieczyszczenia tych soków drobnoustrojami wynosił od 10^5 do 10^7 jtk/ml. Większość obecnych drobnoustrojów stanowiły bakterie fermentacji mlekowej, a ich liczba kształtowała się na poziomie 10^3 – 10^7 jtk/ml. Zanieczyszczenie drożdżami wynosiło 10^3 – 10^5 jtk/ml, a pleśniami 10^2 – 10^4 jtk/ml. W próbkach badanych soków nie stwierdzono obecności pałeczek *Salmonella* sp. w 25 g. Obecność bakterii *Listeria monocytogenes* stwierdzono w 7 próbkach soków z warzyw korzeniowych, co stanowiło 41,2% badanych próbek tego asortymentu. Soki z warzyw korzeniowych były zanieczyszczone bakteriami *E. coli*, a ich obecność stwierdzono w 57% badanych próbek.

Metodą ograniczenia liczby mikroflory, zapewniającą bezpieczeństwo konsumenta z zachowaniem naturalnego smaku i walorów odżywczych utrwalanych soków, może być zastosowanie wysokiego ciśnienia hydrostatycznego.

Celem prezentowanego fragmentu badań była wstępna ocena przydatności wysokiego ciśnienia hydrostatycznego do inaktywacji mikroflory w sokach z warzyw korzeniowych oraz wpływ zastosowanej obróbki na barwę soków.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Soki z marchwi (pH 6,27), marchwi i selera (pH 6,29) oraz buraków i jabłek (pH 4,35), zakupione w handlu detalicznym na terenie Warszawy, poddawano ciśnieniowaniu przed upływem deklarowanego terminu przydatności do spożycia. Zabiegi ciśnieniowania próbek wykonano w Instytucie Wysokich Ciśnień PAN w komorze wysokociśnieniowej U 4000/65. Objętość robocza komory wynosi 0,95 l a maksymalne ciśnienie, jakie można uzyskać, wynosi 600 MPa. Jako medium ciśnieniowe zastosowano mieszaninę wody z glikolem polipropylenowym (1:1). Urządzenie umożliwia utrzymanie temperatury roboczej w zakresie od -10°C do $+80^{\circ}\text{C}$.

Próbki soków rozlane po 13 ml (badania mikrobiologiczne) do polietylenowych probówek (Sarstedt) oraz po 50 ml do polietylenowych butelek (KAUTEX) (ocena barwy) poddawano działaniu ciśnienia hydrostatycznego 300 MPa w temperaturze 20°C w czasie 1,5 i 10 min. Zabieg ciśnieniowania wykonano w dwóch powtórzeniach. Czas uzyskania ciśnienia i czas dekompresji nie są wliczone w czas ciśnieniowania.

Przeżywalność mikroflory saprofitycznej oznaczano metodą płytkową po ok. 2 h po ciśnieniowaniu, po przewiezieniu w warunkach chłodniczych do laboratorium IBPRS. Liczbę

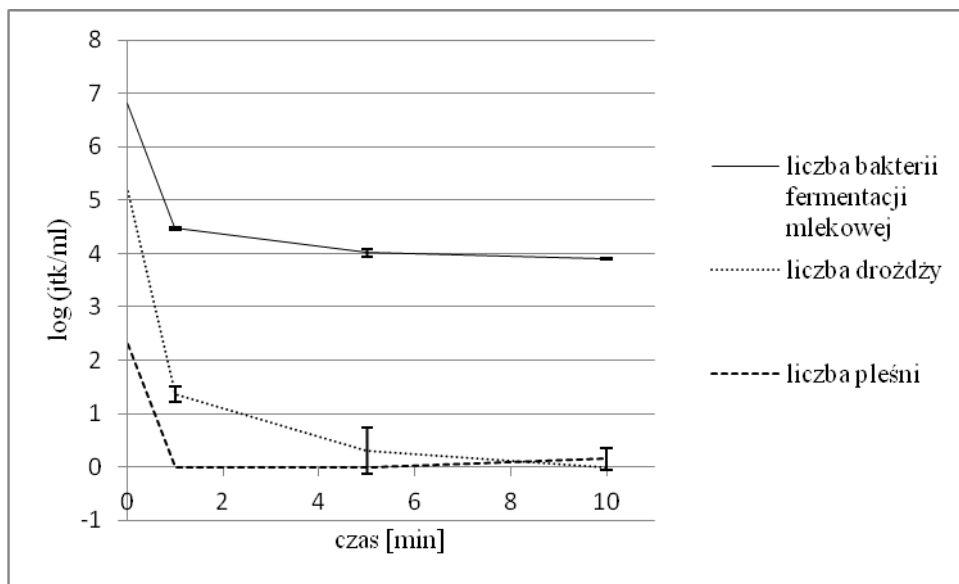
drobnoustrojów oznaczano na pożywce OSA (Merck), liczbę bakterii fermentacji mlekowej na pożywce MRS (Merck), liczbę drożdży i pleśni na pożywce DRBC (Merck).

Barwę soków oceniano spektrofotometrycznie w świetle przechodzącym w systemie CIE $L^*a^*b^*$ (aparat Minolta CR-200, iluminat D_{65}). Pomiary obejmowały: jasność barwy L^* , udział barwy czerwonej a^* oraz udział barwy żółtej b^* . Pomiary wykonywano w trzech powtórzeniach. Obliczono wartości parametrów: nasycenie barwy (Chroma): $C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ oraz całkowitą różnicę barwy $\Delta E = ((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)^{1/2}$ [Instrukcja aparatu Minolta CR-200, Barba i in. 2011].

Istotność różnic pomiędzy poszczególnymi parametrami barwy próbek soków przed procesem ciśnieniowania i po nim oceniono testem t-Studenta.

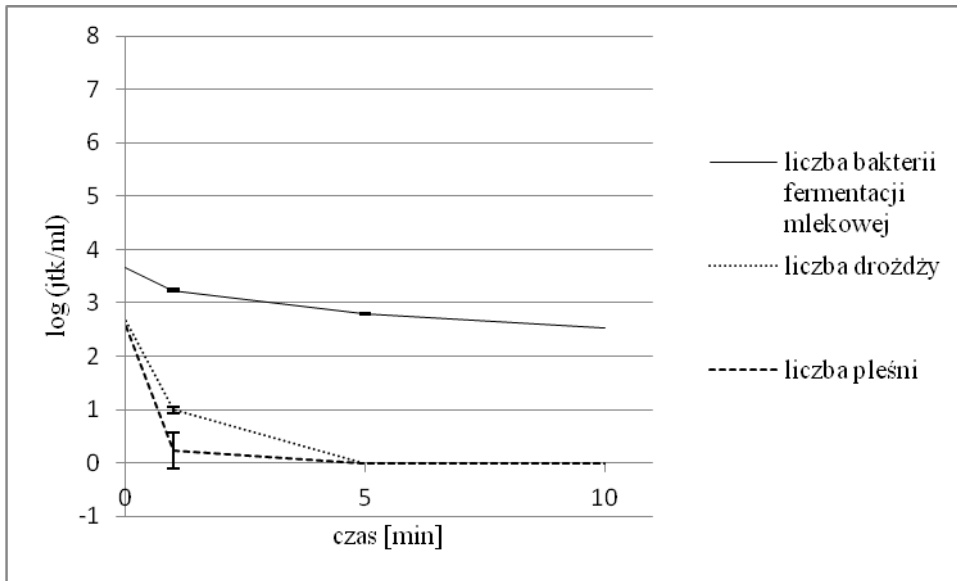
WYNIKI I DYSKUSJA

Przeżywalność mikroflory saprofitycznej w sokach z warzyw korzeniowych poddanych działaniu ciśnienia 300 MPa w temp. 20°C w czasie 1,5 i 10 min przedstawiono na rys. 1–3.

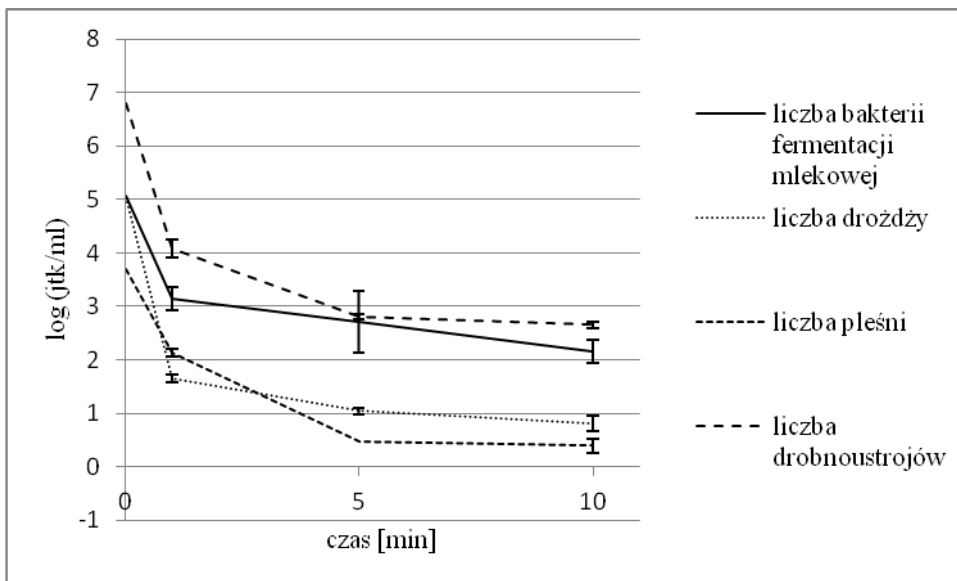


Rysunek 1. Przeżywalność mikroflory soku marchwiowego poddanego działaniu ciśnienia 300 MPa w temp. 20°C

Survival curve of native microflora of carrot juice treated with 300 MPa at 20°C



Rysunek 2. Przeżywalność mikroflory soku marchwiowego z dodatkiem selera poddanego działaniu ciśnienia 300 MPa w temp. 20°C
Survival curve of native microflora of carrot and celery juice treated with 300 MPa at 20°C



Rysunek 3. Przeżywalność mikroflory soku z buraków i jabłek poddanego działaniu ciśnienia 300 MPa w temp. 20°C
Survival curve of native microflora of beetroot and apple juice treated with 300 MPa at 20°C

Badane soki charakteryzowały się różnym wyjściowym poziomem zanieczyszczenia

mikrobiologicznego. Drożdże i pleśnie występujące naturalnie w sokach z warzyw korzeniowych łatwo ulegały inaktywacji przy zastosowanych parametrach procesu. W zależności od rodzaju soku liczba drożdży zmniejszyła się od 2,65 do 5,17 log w czasie 10 min działania ciśnienia. Redukcja liczby pleśni wynosiła w tych samych warunkach od 2,00 do 3,30 log w zależności od rodzaju soku. Bakterie fermentacji mlekowej okazały się bardziej odporne na działanie ciśnienia hydrostatycznego. Redukcja ich liczby wynosiła od 1,12 do 3,08 log w tych samych warunkach ciśnieniowania. Liczba drobnoustrojów ulegała inaktywacji o 4,15 log po 10 min działania ciśnienia.

Parish (1998) w swojej pracy porównała kinetykę inaktywacji komórek vegetatywnych *Saccharomyces cerevisiae*, askospor tego gatunku oraz mikroflory naturalnie występującej w soku z pomarańczy odmiany Hamlin. Naturalną mikroflorę soku pomarańczowego stanowiły w 23% drożdże i w 26% bakterie fermentacji mlekowej. Wyznaczone przez autorkę wartości D (czas potrzebny do redukcji 90% komórek) w temp 25°C przy zastosowanym ciśnieniu 350 MPa wynosiły: 38 s dla komórek vegetatywnych *S. cerevisiae*, 76 s dla askospor *S. cerevisiae* i 79 s dla mikroflory naturalnie występującej w soku pomarańczy. Porównując wyznaczone wartości parametru D, można stwierdzić, że najbardziej odporna na działanie ciśnienia jest naturalna mikroflora soków, a jej oporność jest porównywalna z opornością askospor drożdży. Podobne wyniki odnotowano w pracy Aroyo i in. (1997) – naturalna mikroflora owoców i warzyw okazała się bardziej odporna na działanie wysokiego ciśnienia niż sztucznie wprowadzone drobnoustroje. Ciśnienie 350 MPa (10°C, 20 min) zredukowało naturalnie występującą populację drożdży i pleśni o 3 log, podczas gdy sztucznie wprowadzone *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger* i *Penicillium* spp. uległy inaktywacji o 4 log.

Z badań Dede i in. (2007) wynika, iż po zastosowaniu ciśnienia 250 MPa w temp. 35°C przez 15 min naturalna mikroflora soku z marchwi zmniejszyła się o 5,5 log, a soku pomidorowego o 4,5 log. Zastosowane ciśnienie 450 MPa i temp 50°C w czasie 20 min całkowicie eliminowały mikroflorę mętnych soków jabłkowych, w których ogólna liczba drobnoustrojów wyjściowo wynosiła 5 log, a liczba drożdży i pleśni 4 log [Kostrzewa i in. 2002].

W tabeli 1 przedstawiono zmianę parametrów barwy soków z warzyw korzeniowych po procesie ciśnieniowania. Udział barwy czerwonej (a*), żółtej (b*) oraz nasycenie barwy (C) soku marchwiowego zmniejszyły się istotnie ($p < 0,05$) po procesie ciśnieniowania. Zmiany te wskazują na zmianę tonu w kierunku zielono-niebieskim. W soku marchwiowym z selerem oraz soku z buraków i jabłek zaobserwowano odwrotne zjawisko, tzn. udział barwy

czerwonej (a*), żółtej (b*) i nasycenie barwy (C) wzrosły istotnie ($p < 0,05$) po procesie ciśnieniowania. Wskazuje to na zmianę tonu w kierunku czerwono-żółtym. Zmiany parametru L* (jasność barwy) były nieistotne statystycznie ($p > 0,05$) dla wszystkich badanych rodzajów soków.

Tabela 1. Zmiany parametrów barwy soków z warzyw korzeniowych po procesie ciśnieniowania
Changes of colour parameters root juices after pressurization

Rodzaj soku <i>Kind of juice</i>		Parametr barwy <i>Colour parameters</i>				
		L*	a*	b*	Chroma	ΔE
Sok marchwiowy <i>Carrot juice</i>	Sok surowy <i>Raw juice</i>	42,31±0,07 ^a	16,91±0,04 ^a	29,31±0,06 ^a	33,84±0,03 ^a	0,79±0,06
	Po HHP <i>After HHP</i>	42,46±0,02 ^a	16,20±0,01 ^b	29,00±0,08 ^b	33,21±0,07 ^b	
Sok marchwiowy z selerem <i>Carrot and celery juice</i>	Sok surowy <i>Raw juice</i>	44,97±0,01 ^a	20,63±0,06 ^a	33,36±0,07 ^a	39,22±0,09 ^a	0,54±0,12
	Po HHP <i>After HHP</i>	44,98±0,03 ^a	21,08±0,03 ^b	33,65±0,03 ^b	39,71±0,04 ^b	
Sok z buraków i jabłek <i>Beetroot and apple juice</i>	Sok surowy <i>Raw juice</i>	22,01±0,02 ^a	6,37±0,08 ^a	2,59±0,04 ^a	6,88±0,07 ^a	0,82±0,03
	Po HHP <i>After HHP</i>	21,97±0,03 ^a	7,21±0,03 ^b	2,72±0,05 ^b	7,71±0,02 ^b	

Nasycenie barwy (Chroma): $C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$

Całkowita różnica barwy: $\Delta E = ((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)^{1/2}$

^a wyniki średnie dla poszczególnych rodzajów soków w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie ($p > 0,05$)

Całkowite różnice w barwie próbek przed poddaniem działaniu ciśnienia i po nim oceniono w zależności od wartości ΔE jako niezauważalne (0–0,5), słabo zauważalne (0,5–1,5), zauważalne (1,5–3,0), dobrze widoczne (3,0–6,0) i duże (6,0–12,0) [Barba i in. 2011]. Zmiana barwy próbek soków poddanych działaniu wysokiego ciśnienia $\Delta E < 1,5$ była słabo zauważalna, pomimo iż zmiany parametrów a*, b* i C były istotne statystycznie. Jednakże, aby w pełni ocenić wpływ procesu ciśnieniowania na barwę utrwalanego wyrobu,

konieczne jest prowadzenie obserwacji zmian nie tylko bezpośrednio po procesie ciśnieniowania, lecz także w czasie przechowywania, co będzie przedmiotem dalszych badań.

Barwa soku z buraków jest wywołana obecnością barwników betalainowych. W piśmiennictwie światowym brak jest publikacji dotyczących zmian barwy soków z buraków utrwalanych technologią HHP. Natomiast tradycyjne utrwalanie związane z obróbką termiczną prowadzi do znacznych strat barwników betalainowych w burakach ćwikłowych [Kidoń, Czapski 2007]. Całkowita różnica barwy ΔE soku marchwiowego poddanego działaniu ciśnienia 250 MPa w temp. 35°C przez 15 min była mniejsza niż 3,0. Ponadto stwierdzona zmiana barwy była dwukrotnie mniejsza niż w próbkach pasteryzowanych w 80°C przez 1 min [Dede i in. 2007]. W badaniach Kim i in. (2001) wykazano, że straty α -karotenu i β -karotenu w czasie ciśnieniowania soku z marchwi (w zakresie 100–600 MPa) były niewielkie w porównaniu z obróbką termiczną (105°C, 30 s). Połączenie procesu ciśnieniowania z łagodnym ogrzewaniem (50–70°C) również nie spowodowało znaczących strat tych barwników.

Publikacje światowe wskazują na słabo zauważalne ($\Delta E < 1,5$) lub zauważalne ($\Delta E < 3,0$) zmiany barwy soków lub puree z owoców kolorowych utrwalanych technologią HHP [Barba i in. 2011, Rodrigo i in. 2007, Petras i in. 2009a, Petras i in. 2009b]. W badaniach Barba i in. (2011) nie stwierdzono zmiany barwy soków z czarnych jagód po procesach ciśnieniowania (200, 400 i 600 MPa przez 5, 9 i 15 min). Zmiany parametrów a i b były nieistotne statystycznie, natomiast całkowita zmiana barwy ΔE była mniejsza niż 1,5, a więc była wizualnie słabo zauważalna. Jedyne istotne statystycznie zmiany dotyczyły jasności próbek (mierzonej za pomocą parametru L^*), które zależały od czasu i wysokości stosowanego ciśnienia. Podobne rezultaty, tj. brak zmiany barwy, wykazano dla puree pomidorowego [Rodrigo i in. 2007, Petras i in. 2009a]. Zauważalne zmiany barwy zaobserwowano natomiast w puree truskawkowym i z czarnych porzeczek ($\Delta E < 3,0$ przy 500 i 600 MPa/15 min) [Petras i in. 2009b]. W badaniach Rodrigo i in. (2007) również zaobserwowano istotną statystycznie zmianę, o 8,8%, barwy soku truskawkowego o pH 3,7 i 5,0 po ciśnieniowaniu 600–700 MPa.

WNIOSKI

1. Naturalna mikroflora soków z warzyw korzeniowych ulega inaktywacji pod wpływem wysokiego ciśnienia hydrostatycznego, przy czym największą oporność na jego działanie wykazały bakterie fermentacji mlekowej.
2. Zmiany poszczególnych parametrów barwy były niewielkie, ale istotne statystycznie, podczas gdy całkowita zmiana barwy (ΔE) ciśnieniowanych próbek soków była wizualnie słabo zauważalna.

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2011–2014 jako projekt badawczy 2011/01/B/NZ9/02537.

PIŚMIENNICTWO

1. Aroyo G., Sanz P.D., Prestamo G. (1997). Effect of high pressure on the reduction of microbial populations in vegetables. *J. Appl. Microbiol.*, 82, 735-742
2. Barba F.J., Esteve M.J., Frigola A. (2011). Physicochemical and nutritional characteristics of blueberry juice after high pressure processing. *Food Res. Int.* doi:10.1016/j.foodres.2011.02.38
3. Basak S., Ramaswamy H.S. (1996). Ultra high pressure treatment of orange juice: a kinetic study on inactivation of pectin methyl esterase. *Food Res. Int.*, 29(7), 601-607
4. Basak S., Ramaswamy H.S., Piette J.P.G. (2002). High pressure destruction kinetics of *Leuconostoc mesenteroides* and *Saccharomyces cerevisiae* in single strength and concentrated orange juice. *Inn. Food Sci. Emerg. Technol.*, 3, 223-231
5. Bayindirich A., Alpas H., Bozoglu F., Hizal M. (2006). Efficiency of high pressure treatment on inactivation of pathogenic microorganisms and enzyme in apple, orange, apricot and sour cherry juices. *Food Control*, 17, 52-58
6. Bell C., Kyriakides A. (2002). Pathogenic *Escherichia coli*. W: Foodborne pathogens. Hazards, risk analysis and control. Blackburn C.W., McClure P.J. (red.). Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, CRC Press LLC, Boca Raton USA, 279-306
7. Bull M.K., Zerdin K., Howe E., Goicoechea D., Paramanandham P., Stockman R., Sellahewa J., Szabo E.A., Johnson R.L., Stewart C.M. (2004). The effect of high pressure processing on the microbial, physical and chemical properties of Valencia and Navel orange juice. *Inn. Food Sci. Emerg. Technol.*, 5, 135-149
8. Cano M.P., Hernandez A., De Ancons B. (1996). High pressure and temperature effects on enzyme inactivation in strawberry and orange products. *J. Food Science*, 61(6), 1-4
9. Dede S., Alpas H., Bayindirich A. (2007). High hydrostatic pressure treatment and storage of carrot and tomato juices: Antioxidant activity and microbial safety. *J. Sci. Food Agric.*, 87, 773-782
10. Instrukcja aparatu Minolta CR-200

11. Kidoń M., Czapski J. (2007). Wpływ obróbki termicznej na zawartość barwników betalainowych i zdolność przeciwutleniającą buraka ćwikłowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1(50), 124-131
12. Kim Y-S., Park S.J., Cho Y-H., Park J. (2001). Effect of combined treatment of high hydrostatic pressure and mild heat on the quality of carrot juice. *J. Food Sci.*, 66 (9), 1355-1360
13. Kostrzewa E., Fonberg-Broczek M., Jakubowski A., Skąpska S., Sieliwanowicz B., Gwiazdowska-Witkowska A., Zdziennicka D., Arabas J., Szczepek J. (2002). The apple juice preserved by high pressure treatment at moderate temperature and pasteurization. Comparative quality assessment. W: High pressure effects in chemistry, biology and materials science. Vols. 208-209. Defect and diffusion forum. Red. W. Łojkowski. Scietec Publications Ltd, Switzerland, 77-82
14. Miller L.G., Kaspar C.W. (1994). *Escherichia coli* O157:H7 acid tolerance and survival in apple cider. *J. Food Protect.*, 57, 460-464
15. Ogawa H., Fukuhisa K., Kubo Y., Fukumoto H. (1990). Pressure inactivation of yeasts, moulds, and pectinesterase in Satuma mandarin juice: effect of juice concentration, pH, and organic acids, and comparison with heat sanitation. *Agri. Biol. Chem.*, 54, 1219-1225
16. Parish M.E. (1998). High pressure inactivation of *Saccharomyces cerevisiae*, endogenous microflora and pectimethylesterase in orange juice. *J. Food Safety*, 18, 57-65
17. Petras A., Brunton N.P., Da Pieve S., Butler F. (2009a). Impact of high pressure processing on total antioxidant, activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purees. *Inn. Food Sci. Emerg. Technol.*, 10, 308-313
18. Petras A., Brunton N.P., Da Pieve S., Butler F. (2009b). Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purees. *Inn. Food Sci. Emerg. Technol.*, 10, 16-22
19. Rajkowski K.T., Baldwin E.A. (2003). Concerns with minimal processing in apple, citrus and vegetable products. W: Microbial safety of minimally processed foods. Novak J.S., Sapers G.M., Juneja V.K. (red.). CRC Press, 35-52
20. Rastogi N.K., Eshtiagi M.N., Knorr D. (1999). Effects of combined high pressure and heat treatments on the reduction of peroxidase and polyphenoloxidase activity in red grapes. *Food Biotech.*, 13(2), 195-208
21. Rodrigo D., van Loey A., Hendrickx M. (2007). Combine thermal and high pressure colour degradation of tomato puree and strawberry juice. *J. Food Engin.*, 79, 553-560
22. Sado P.N., Jinneman K.C., Busby G.J., Sorg S.M., Omiecinski C.J. (1998). Identification of *Listeria monocytogenes* from unpasteurised apple juice using rapid test kits. *J. Food Protect.*, 61, 1199-1202
23. Sokołowska B., Chotkiewicz M., Niezgoda J., Dekowska A. (2011). Ocena zanieczyszczenia mikrobiologicznego świeżych, niepasteryzowanych, wyciskanych soków owocowych i warzywnych dostępnych w handlu. *Zeszyty Probl. Post. Nauk Roln.*, 569, 219-228

24. Vasavada P.C. (2003). Microbiology of fruit juice and beverages. W: Beverage quality and Safety. Foster T., Vasavada P.C. (red.). CRC PRESS, Institute of Food Technologists, Boca Raton, London, New York, Washington D.C., 95-123
25. Voldrich M., Dobias J., Ticha L., Čerovsky M., Kratka J. (2004). Resistance of vegetative cells and ascospores of heat resistant mould *Talaromyces avellaneus* to the high pressure treatment in apple juice. J. Food Engin., 61(4), 541-543
26. Zook C.D., Parish M.E., Braddock R.J., Balaban M.O. (1999). High pressure inactivation kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* ascospores in orange juice. J. Food Sci., 64, 533-535