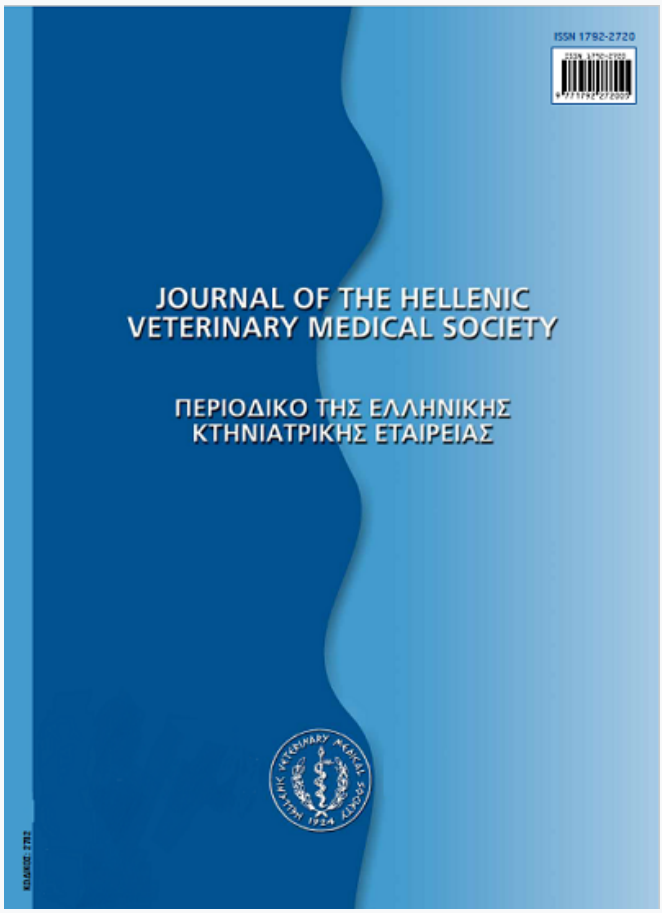
ePublishing

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 55, No 4 (2004)



High Hydrostatic Treatment of Foods

K. A.G. KARATZAS (Κ.Α.Γ. ΚΑΡΑΤΖΑΣ)

doi: 10.12681/jhvms.15131

To cite this article:

KARATZAS (Κ.Α.Γ. ΚΑΡΑΤΖΑΣ) K. A. (2017). High Hydrostatic Treatment of Foods. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *55*(4), 324–330. https://doi.org/10.12681/jhvms.15131

https://epublishing.ekt.gr | **e-Publisher:** EKT | **Downloaded at:** 09/08/2025 18:14:29

ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ 2004, 55(4): 324-330
JOURNAL OF THE HELLENIC VETERINARY MEDICAL SOCIETY 2004, 55(4): 324-330

Ανασκόπηση
Review article

Η Υψηλή Υδροστατική Πίεση στην Επεξεργασία Τροφίμων

Κ.Α.Γ. Καρατζάς

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Η θερμική επεξεργασία (μαγείρεμα, παστερίωση, αποστείρωση κτλ.) ήταν για αιώνες η κύρια μέθοδος συντήρησης τροφίμων. Πρόσφατα, οι τελευταίες τάσεις στην Επεξεργασία Τροφίμων αποσκοπούν στην παραγωγή υγιεινών τροφίμων που διατηρούν σε μεγάλο βαθμό τα φυσικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Νέες Μέθοδοι Συντήρησης και συνδυασμοί τους, όπως πρεσβεύει η Τεχνολογία Εμποδίων (Hurdle Technology), έχουν εξελιχθεί και χρησιμοποιούνται στη Βιομηχανία Τροφίμων. Μια από τις πιο υποσχόμενες και δοκιμασμένες στη διεθνή αγορά τεχνικές είναι η επεξεργασία με Υψηλή Υδροστατική Πίεση. Η παστερίωση με Υψηλή Υδροστατική Πίεση (200-600 MPa) εφαρμόζεται κυρίως σε τρόφιμα, όταν η χρήση της θερμικής επεξεργασίας δεν είναι δυνατή ή όταν απαιτείται μέγιστη διατήρηση της θρεπτικής αξίας του τροφίμου. Σε αντίθεση με τη θερμική επεξεργασία, η Υψηλή Υδροστατική Πίεση δύναται να αδρανοποιήσει μικροοργανισμούς και ανεπιθύμητα ένζυμα σε χαμηλές θερμοκρασίες, χωρίς να επηρεάζει τη γεύση, το χρώμα ή τα θρεπτικά συστατικά του τροφίμου. Επίσης, η Υψηλή Υδροστατική Πίεση καταστρέφει τα παράσιτα, τους ιούς και τα πρίον. Είναι μια εξαιρετική μέθοδος παστερίωσης, που ίσως στο μέλλον χρησιμοποιηθεί και για την αποστείρωση των τροφίμων. Η Υψηλή Υδροστατική Πίεση επηρεάζει σχεδόν όλες τις δραστηριότητες και τα στοιχεία του κυττάρου, με πιο εμφανή επίδραση στη μεγαλομοριακή σύνθεση, τις πρωτεΐνες του και την κυτταρική μεμβράνη του. Ένα από τα κύρια προβλήματα της μεθόδου είναι η εμφάνιση πιεζοάντοχων στελεχών μικροοργανισμών, με εξαιρετικά μεγάλες αποκλίσεις ως προς την αντοχή τους στις υψηλές πιέσεις, που δυσκολεύουν το σχεδιασμό της επεξεργασίας. Το φαινόμενο αυτό σχετίζεται κυρίως με την παραγωγή πρωτεϊνών κατά του στρες. Το προαναφερόμενο πρόβλημα μπορεί να λυθεί με το συνδυασμό της Υψηλής Υδροστατικής Πίεσης με άλλες μεθόδους εξυγίανσης ή με την αύξηση της εξασκούμενης πίεσης. Η Υψηλή Υδροστατική Πίεση είναι μια μέθοδος η οποία εξελίσσεται γρήγορα και παίρνει τη θέση της στη σύγχρονη Βιομηχανία Τροφίμων, καθώς τα πρώτα τρόφιμα που επεξεργαστήκαν με Υψηλή Υδροστατική Πίεση παρουσιάστηκαν στην αγορά μόλις την τελευταία δεκαετία. Η Ελληνική Βιομηχανία Τροφίμων, σε συνεργασία με τα Ερευνητικά Ιδρύματα, πρέπει να επωφεληθούν από τις εξελίξεις στον τομέα αυτό, καθώς η μέθοδος αυτή μπορεί να βελτιώσει σημαντικά την ποιότητα και την ανταγωνιστικότητα των ελληνικών προϊόντων.

Λέξεις ευρετηρίασης: Υψηλή Πίεση, Τρόφιμα, Μικροοργανισμοί, Επεξεργασία

Veterinary Pathology & Infection & Immunity, School of Clinical Veterinary Science, University of Bristol, Langford, BS40 5DU, UK
E-mail:k.a.karatzas@bris.ac.uk & akaratza@otenet.gr

Ημερομηνία υποβολής: 27.07.2004
Ημερομηνία εγκρίσεως: 11.11.2004

High Hydrostatic Treatment of Foods

Karatzas K.A.G.

ABSTRACT. Heat Treatment (cooking, boiling, roasting, pasteurisation, sterilisation etc.) has always been for centuries the principal method used in Food Preservation. Lately, recent trends in processing are aimed at more healthy, nutritious and convenient food. New food preservation techniques, new concepts (Hurdle Technology) have been developed and are currently being used in the Food Industry. One of the most promising and already applied, tested in the international market, novel techniques is the High Hydrostatic Pressure treatment. Principal usage of High Hydrostatic Pressure treatment (200-600 MPa) is the pasteurisation of foods, where the use of heat treatment is not applicable or in cases where maximum retention of the nutritional value of food is needed. In contrast to thermal processing, High Hydrostatic Pressure treatment can inactivate microorganisms and unfavourable enzymes at ambient or low temperatures, without affecting flavour, colour or nutritional constituents within a food system. High Hydrostatic Pressure could also inactivate food parasites, prions viruses and prionsviruses. It is an excellent pasteurisation and in the future it will turn to be even a sterilisation method. High Hydrostatic Pressure treatment affects almost all cellular processes and parts of the cell, with more prominent targets the macromolecular synthesis, the proteins and the cellular membrane. The main problem of this method is the occurrence of piezotolerant strains of microorganisms with great deviations regarding their piezotolerance, that could cause problems in the design of the treatment. This phenomenon is mostly related with the production of stress proteins. The problem could be solved by the use of combined processes of High Hydrostatic Pressure with other methods or with higher pressures achieved by the technological development of the method. Despite the above-mentioned problems, High Hydrostatic Pressure is a method that advances fast and is taking its place in the modern Food Industry, considering that only a decade passed since the first High Hydrostatic Pressure treated products were presented in the market. The Greek Food Industry and Research Sector should take advantage of the developments in HHP, as this method could improve substantially the quality and competitiveness of the greek agricultural products.

Key words: High Pressure, Food, Microorganisms, Treatment

Veterinary Pathology & Infection & Immunity, School of Clinical Veterinary Science, University of Bristol, Langford, BS40 5DU, UK
E-mail:k.a.karatzas@bris.ac.uk & akaratza@otenet.gr

Submission date: 27.07.2004
Approval date: 11.11.2004

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η κλασική θερμική επεξεργασία είναι μια αξιόπιστη μέθοδος για τη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού των τροφίμων και χρησιμοποιείται εδώ και αρκετούς αιώνες από τον άνθρωπο. Παρουσιάζει, όμως, το μειονέκτημα ότι η εφαρμογή της μειώνει τη θρεπτική αξία των τροφίμων και σε πολλές περιπτώσεις αλλοιώνει και τη γεύση τους. Τα τελευταία χρόνια, νέες πιο ήπιες τεχνικές και μέθοδοι έχουν εμφανιστεί στην Επεξεργασία Τροφίμων, προσφέροντας νέες δυνατότητες για τη Βιομηχανία και την Έρευνα. Μία από τις πιο σημαντικές νέες μεθόδους, είναι η επεξεργασία τροφίμων με Υψηλή Υδροστατική Πίεση (ΥΥΠ).

Κύρια χρήση της ΥΥΠ είναι η παστερίωση τροφίμων σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για προϊόντα ευαίσθητα στη θέρμανση. Οι βακτηριοκτόνες ιδιότητες της Υψηλής Υδροστατικής Πίεσης είναι γνωστές από το 1896, από πειράματα που διεξήγαγε ο Hite (1899). Παρ' όλο που η ανακάλυψη αυτή είναι τόσο παλιά, χρειάστηκε περίπου ένας αιώνας ώσπου να εφαρμοστεί εμπορικά σε τρόφιμα: πρώτα στην Ιαπωνία το 1990 και το 1996 στην Ευρώπη και τις ΗΠΑ (Knorr και συν. 1998).

Η επεξεργασία τροφίμων με ΥΥΠ μειώνει τον αριθμό των βλαστικών μορφών των μικροοργανισμών και αδρανοποιεί τα ένζυμα, χωρίς να επηρεάζει τη θρεπτική αξία του τροφίμου και τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά (Smelt 1998). Αυτό είναι ουσιαστικά και το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής. Προσφέρει μια εξαιρετική εναλλακτική λύση σε περιπτώσεις όπου είναι αδύνατη η χρήση θερμικής επεξεργασίας. Η δράση της ΥΥΠ μεταφέρεται στιγμιαία και είναι όμοια σε κάθε σημείο του τροφίμου, ανεξάρτητα από το μέγεθος και το σχήμα του (Smelt 1998). Οι πιέσεις που χρησιμοποιούνται για την επεξεργασία των τροφίμων με τη μέθοδο αυτή είναι μεταξύ 50 και 1000 MPa, με συνηθέστερες αυτές μεταξύ 200 και 600 MPa (Metrick και συν. 1989, Patterson και συν. 1995). Η ΥΥΠ προς το παρόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο για παστερίωση, επειδή η αδρανοποίηση των βακτηριακών σπορίων απαιτεί πιέσεις πάνω από 1000 MPa (Smelt 1998), γεγονός που αυξάνει το κόστος του προϊόντος. Επίσης, η ΥΥΠ είναι νέα μέθοδος και δεν έχουν ακόμη προσδιοριστεί πρότυπες καμπύλες της καταστροφής των μικροοργανισμών. Κάθε προϊόν που εξυγιάνθηκε με τη μέθοδο αυτή πρέπει με μικροβιολογικές εξετάσεις να αποδειχθεί ότι είναι ασφαλές. Ένα μεγάλο πρόβλημα είναι η αυξημένη ποικιλότητα στην πιεζοαντοχή, που παρουσιάζουν οι διάφοροι μικροοργανισμοί, ακόμη και στελέχη του ίδιου είδους. Απαιτείται ερευνά προς αυτήν την κατεύθυνση, καθώς ακόμα δεν είναι απολύτως γνωστοί οι ακριβείς μηχανισμοί της βακτηριοκτόνου δράσης της ΥΥΠ, οι οποίοι πιθανολογείται ότι είναι εξαιρετικά πολύπλοκοι (Iwahashi και συν. 1993, Rönner 1998). Παρ' όλα αυτά, τα φαινόμενα αυξημένης πιεζοαντοχής μπορούν να αντιμετωπιστούν, αν η ΥΥΠ συνδυαστεί με άλλες μεθόδους επεξεργασίας τροφίμων, μειώνοντας παράλληλα και το κόστος (Cheftel 1995, Adegoge και συν. 1997, Palou και συν. 1999, Karatzas και συν. 2001, Spilimbergo και συν. 2003).

Άλλες εφαρμογές της ΥΥΠ είναι η κατάψυξη και η απόψυξη με μικροκρυστάλλωση, η παρασκευή μαρμελάδων χωρίς θέρμανση και η αδρανοποίηση ενζύμων χωρίς θέρμανση κ.α.

Ορολογία

Σε πολλά άρθρα που αφορούν στην επεξεργασία τροφίμων με ΥΥΠ, αλλά και γενικότερα στη χρήση της Υψηλής Πίεσης σε τομείς όπως η Ενάλια Βιολογία, συναντούνται οι όροι βαρόφιλος (barophile) και βαροάντοχος (barotolerant). Το πρόθεμα βαρο- (baro) προέρχεται από τη λέξη βάρος, που εκφράζει δύναμη και όχι πίεση. Η πίεση ορίζεται ως δύναμη προς επιφάνεια. Επομένως, όπως έχει ήδη προταθεί από τον Yayanos (1995), όταν αναφερόμαστε σε πίεση, είναι προτιμότερη ετυμολογικά η χρήση του πρώτου συνθετικού πιεζο- (piezo-), που άλλωστε χρησιμοποιείται ήδη ευρέως στη Φυσική και τη Χημεία (π.χ. πιεζοκρύσταλλοι).

Η μέθοδος

Πριν την επεξεργασία με ΥΥΠ, το τρόφιμο συσκευάζεται μέσα σε έναν περιέκτη από εύκαμπτο υλικό (πλαστικά σακουλάκια) και ακολούθως το συσκευασμένο προϊόν τοποθετείται στο μηχάνημα πίεσης. Το μηχάνημα πίεσης είναι ουσιαστικά ένας μεταλλικός κύλινδρος που περιέχει το μέσο μετάδοσης της πίεσης (συνήθως νερό), μέσα στο οποίο εμβαπτίζεται το τρόφιμο. Ο ερμητικά κλεισμένος κύλινδρος είναι συνδεδεμένος με μια αντλία, που ασκεί πίεση στο μέσο μετάδοσης πίεσης και κατ' επέκταση στο τρόφιμο, μέσω ενός εμβόλου. Η πίεση διατηρείται σταθερή για όσο χρόνο απαιτείται να θανατωθούν οι μικροοργανισμοί και μετά την αποσυμπίεση το τρόφιμο είναι έτοιμο για διάθεση στην αγορά. Πρέπει να αναφερθεί ότι κατά τη συμπίεση του νερού παρατηρείται το φαινόμενο της αύξησης της θερμοκρασίας (2-3°C ανά 100 MPa) που εξαρτάται από την αρχική θερμοκρασία και από το ρυθμό συμπίεσης. Κατά την αποσυμπίεση παρατηρείται ανάλογη πτώση της θερμοκρασίας (Cheftel 1995).

ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

Τρόπος δράσης της πίεσης

Σύμφωνα με την αρχή του Le Chatelier, ένα σύστημα σε ισορροπία τείνει να μειώσει την επίδραση κάθε εξωτερικού παράγοντα που το διαταράσσει. Κάθε αύξηση της πίεσης οδηγεί σε αλλαγές που τείνουν να μειώσουν τον όγκο του συστήματος (Heremans 1982, Mozhaev και συν. 1996). Για παράδειγμα, το νερό παραμένει υγρό σε θερμοκρασία -22°C και πίεση 210 MPa, γιατί στην υγρή φάση παρουσιάζει μικρότερο όγκο απ' ότι στη στερεή. Αντίθετα, στα λιπίδια η πίεση ευνοεί τη στερεά φάση, γιατί παρουσιάζει μικρότερο όγκο απ' ότι η υγρή φάση (Cheftel 1995). Από τα παραπάνω είναι προφανές ότι κάθε φαινόμενο που μπορεί να επηρεάσει τον όγκο ενός συστήματος επηρεάζεται με τη σειρά του από την πίεση.

Μία άλλη αρχή που διέπει τις επεξεργασίες με ΥΥΠ είναι αυτή της ισοστατικής πίεσης. Αυτό σημαίνει ότι η πίεση κατανέμεται ομοιόμορφα και είναι όμοια σε κάθε σημείο του υπό επεξεργασία τροφίμου, ενώ είναι ανεξάρτητη του σχήματος και του μεγέθους του.

Η ΥΥΠ επηρεάζει και τους μοριακούς δεσμούς. Γενικότερα, ηλεκτροστατικές και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις επηρεάζονται σημαντικά από την πίεση, ενώ οι ομοιοπολικοί δεσμοί παραμένουν ανεπηρέαστοι (Heremans 1982, Mozhaev και συν. 1996).

Ένα φαινόμενο που σχετίζεται με την ΥΥΠ είναι η μείωση του pH. Αύξηση της πίεσης οδηγεί σε ηλεκτροσυμπίεση (electrostriction) και ανακατανομή των ηλεκτρικών φορτίων, επιτρέποντας στα μόρια του νερού να τοποθετηθούν με μεγαλύτερη τάξη, που οδηγεί σε μείωση του συνολικού όγκου του συστήματος. Αυτό το φαινόμενο έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του pH, με πολλές επιδράσεις σε πολλά βιολογικά φαινόμενα. Είναι προφανές ότι διαφορετικά υποστρώματα ή ρυθμιστικά διαλύματα που χρησιμοποιούνται κατά την επεξεργασία με ΥΥΠ αποκτούν και διαφορετικές τιμές pH κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας. Για παράδειγμα, το ρυθμιστικό διάλυμα ACES [N-(2-ακεταμιδο)-2-αμινοαιθανεθειικό οξύ] διατηρεί το pH του σχεδόν αμετάβλητο κατά την εφαρμογή ΥΥΠ, ενώ το pH του φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος μειώνεται. Το πρόβλημα της σύγκρισης διαφορετικών πειραμάτων εντείνεται από το ότι σπάνια μετράται το pH σε αυτά (απαιτείται ειδικό μηχάνημα ΥΥΠ), καθώς και από την αυξημένη προστασία που παρέχουν τα θρεπτικά υποστρώματα στους μικροοργανισμούς έναντι της ΥΥΠ (Cheftel 1995).

Η ΥΥΠ μπορεί να προκαλέσει μη αναστρέψιμη μετουσίωση των πρωτεϊνών, όταν υπερβεί κάποια συγκεκριμένη τιμή. Η δράση της πίεσης στις πρωτεΐνες είναι σημαντική για τις κυτταρικές διεργασίες, καθώς οι πρωτεΐνες αποτελούν το 25-55% του ξηρού βάρους του κυττάρου. Η πίεση δεν έχει επίδραση στην πρωτοταγή δομή των πρωτεϊνών, λόγω της σταθερότητας των ομοιοπολικών δεσμών που απαντώνται σε αυτήν, επηρεάζει μέτρια τη δευτεροταγή, αλλά επιδρά κυρίως στην τριτοταγή και στην τεταρτοταγή δομή τους, οι οποίες σταθεροποιούνται μέσω ηλεκτροστατικών δεσμών και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Γενικότερα, η ΥΥΠ επηρεάζει κυρίως τις μεμβράνες και τις πρωτεΐνες και λιγότερο τα νουκλεϊνικά οξέα: το DNA και το RNA σταθεροποιούνται μέσω ομοιοπολικών δεσμών και δεσμών υδρογόνου, οι οποίοι δεν επηρεάζονται από την ΥΥΠ (Heremans 1982).

Επίδραση της πίεσης στους μικροοργανισμούς

Παράλληλα με τα αποτελέσματα που δείχνει να έχει η ΥΥΠ στα δομικά συστατικά του κυττάρου, μπορεί επίσης να διαταράξει τη μεγαλομοριακή σύνθεση. Στην *Escherichia coli*, η σύνθεση του DNA, των πρωτεϊνών και του RNA αναστέλλονται στα 50, 58 και 77 MPa, αντίστοιχα (Yayanos και Pollard 1969). Η ΥΥΠ καταστρέφει τα μαστίγια των μικροοργανισμών και αναστέλλει τη σύνθεσή τους δημιουργώντας προβλήματα στην κινητικότητά τους (Kitching 1957). Ακόμη και χαμηλές πιέσεις, ανάμεσα σε 20 και 50 MPa, μπορούν να περιορίσουν την κυτταρική διαίρεση (Zobell και συν. 1963). Όπως είναι προφανές, η ΥΥΠ επηρεάζει ένα πλήθος διεργασιών που λαμβάνουν χώρα μέσα στο κύτταρο, χωρίς η δράση της να περιορίζεται στην αναστολή ή παρεμπόδιση μιας από αυτές (Metrick και συν. 1989). Πιθανολογείται ότι οι διάφορες κυτταρικές διεργασίες αναστέλλονται σε διαφορετικές πιέσεις, το ύψος των οποίων επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως η σταθερότητα των ενζύμων ή των χημικών ουσιών που εμπλέκονται στη συγκεκριμένη διεργασία (Kalchayanand και συν. 1998). Μία από τις πιο σημαντικές βιολογικές δομές είναι η κυτταρική μεμβράνη, η οποία έχει αποδειχτεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην ικανότητα επιβίωσης των κυττάρων στα οποία εξασκείται ΥΥΠ. Παρόμοιες κυτταρικές μεμβράνες είναι πιο ευαίσθητες στην ΥΥΠ, όταν παρουσιάζουν μικρότερη ρευστότητα (MacDonald και συν. 1992). Πράγματι, σε πειράματα που διεξήγαγαν οι Karatzas και συν. (2001), κύτταρα της *Listeria monocytogenes* ήταν πιο ανθεκτικά στην πίεση, όταν βρίσκονταν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος παρά στον 1°C, επειδή η ρευστότητα της κυτταρικής μεμβράνης τους ήταν μικρότερη. Βέβαια, πέρα από κάποιο σημείο, ιδίως όταν αναφερόμαστε σε διαφορετικές δομές μεμβρανών ή κυτταρικών τοιχωμάτων, μια πιο συμπαγής δομή προσδίδει μεγαλύτερη πιεζοαντοχή. Έτσι, λοιπόν, τα κατά Gram θετικά βακτήρια είναι πιο πιεζοάντοχα από τα κατά Gram αρνητικά, πιθανότατα λόγω του πιο συμπαγούς κυτταρικού τοιχώματός τους, που περιέχει ένα υψηλό ποσοστό πεπτιδογλυκάνης και τεϊχοϊκών οξέων (40-90%), σε αντίθεση με μόνο 10-20% πεπτιδογλυκάνης και απουσία τεϊχοϊκών οξέων για τα κατά Gram αρνητικά βακτήρια (Salton 1994, Palou και συν. 1999). Τα πλέον πιεζοάντοχα κύτταρα είναι τα σπόρια των βακτηρίων και μερικών μυκήτων λόγω της εξαιρετικά συμπαγούς δομής τους (Palou και συν. 1999). Στα ευκαρυωτικά κύτταρα, η πυρηνική, η μιτοχονδριακή και η κυτταρική μεμβράνη επηρεάζονται επίσης από την ΥΥΠ (Shimada και συν. 1993, Kobori και συν. 1995, Sato και συν. 1995, Sato και συν. 1996). Η ΥΥΠ καταστρέφει και τους ιούς. Η ΥΥΠ δρα κυρίως πάνω στην ιϊκή κάψουλα, με αποτέλεσμα να εμποδίζεται η προσκόλληση των ιϊκών σωματιδίων στα κύτταρα (Nagakami και συν. 1994). Η παραπάνω ιδιότητα είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί μελλοντικά για την παραγωγή εμβολίων, ακόμη και για το AIDS (Meyer και συν. 2000). Ενδιαφέρον παρουσιάζει και η πιθανή χρήση της ΥΥΠ για καταστροφή των πρίον σε χαμηλές θερμοκρασίες (π.χ. 60°C), σε αντίθεση με τις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Ένωσης του 1996 που προτείνουν 133°C για 20 λεπτά σε ατμοσφαιρική πίεση (Garcia και συν. 2004).

ΠΙΕΖΟΑΝΤΟΧΗ

Πιεζοαντοχή και φυσιολογία

Η φυσιολογική κατάσταση ενός μικροοργανισμού μπορεί να επηρεάσει την πιεζοαντοχή του. Αυξημένη

αντοχή στην Υψηλή Υδροστατική Πίεση έχει παρατηρηθεί σε καλλιέργειες που είχαν αναπτυχθεί σε σχετικά υψηλές θερμοκρασίες ή που ήταν σε στατική φάση ανάπτυξης, ή ασιτία (Iwahashi και συν. 1991, Mackey και συν. 1995, Casadei και Mackey 1997). Η φυσιολογική αντίδραση που ενεργοποιείται από αυτές τις αντιξοότητες προφυλάσσει τα κύτταρα από τη δράση της Υψηλής Υδροστατικής Πίεσης, πιθανότατα λόγω της αυξημένης σύνθεσης πρωτεϊνών του στρες. Στην *E. coli*, η έκθεση σε μια αύξηση της πίεσης κατά 55 MPa οδήγησε σε έκφραση 55 πρωτεϊνών, πολλές από τις οποίες αναγνωρίστηκαν ως πρωτεΐνες θερμικού ή ψυχρού σοκ (Welch και συν. 1993). Επίσης, οι Karatzas και συν (2003) απέδειξαν ότι οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ συμβάλλουν στην πιεζοαντοχή της *Listeria monocytogenes,* ενώ οι Wemekamp-Kamphuis και συν. (2002) ανακάλυψαν ότι και οι πρωτεΐνες ψυχρού σοκ μπορούν να προσφέρουν προστασία έναντι της πίεσης στη *Listeria monocytogenes*.

Πιεζοαντοχή και γενετικά χαρακτηριστικά

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, τα πιο πιεζοάντοχα κύτταρα είναι τα σπόρια (Palou *et al.*, 1999). Η θανάτωσή τους απαιτεί εξαιρετικά υψηλές πιέσεις (άνω των 1000 MPa). Παρ' όλα αυτά, τα σπόρια είναι ευαίσθητα και μεταξύ 50 και 300 MPa, χωρίς όμως να είναι δυνατή η πλήρης θανάτωση ενός πληθυσμού κατά 100% (Smelt 1998). Το παράδοξο αυτό φαινόμενο εξηγείται μέσω της εκβλάστησής τους, που επιτυγχάνεται λόγω της χαμηλής πίεσης, και εν συνεχεία από τη θανάτωση των εξαιρετικά ευαίσθητων στην πίεση βλαστικών μορφών. Η βλάστηση των σπορίων λόγω της χαμηλής πίεσης πιθανότατα οφείλεται στον ιονισμό των συστατικών τους, αυξάνοντας την ενυδάτωση του πυρήνα τους (Knorr 1994). Ευνοϊκή επίδραση στη βλάστηση έχει και η άνοδος της θερμοκρασίας, που παρατηρείται κατά την εφαρμογή της πίεσης. Παρ' όλα αυτά, ένα ποσοστό σπορίων δε βλασταίνει και επομένως επιβιώνει της επεξεργασίας, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα να είναι δύσκολη η αποστείρωση με αποκλειστική χρήση της ΥΥΠ. Θεωρητικά θα μπορούσαμε να αποστειρώσουμε ένα τρόφιμο με χρήση πιέσεων άνω των 1000 MPa, γεγονός που όμως θα καθιστούσε απαγορευτικό το κόστος του τροφίμου. Επίσης, έχει διερευνηθεί η χρήση πολλαπλών κύκλων πίεσης, όπου ο προηγούμενος κύκλος προκαλεί βλάστηση των σπορίων και ο επόμενος τη θανάτωση των βλαστικών μορφών (Haykawa και συν. 1994, Okazaki και συν. 1994). Η αποτελεσματικότητα της ΥΥΠ μπορεί να μεγιστοποιηθεί όταν συνδυαστεί με άλλες μεθόδους εξυγίανσης, όπως είναι η θέρμανση. Για παράδειγμα, είναι δυνατή η χρήση της ΥΥΠ ή ήπιας θέρμανσης σε πρώτο στάδιο για τη βλάστηση των σπορίων, και ακολούθως εφαρμογή ΥΥΠ ή θέρμανσης σε δεύτερο στάδιο για τη θανάτωση των βλαστικών μορφών τους (Rönner 1998). Η χρήση της ΥΥΠ σε πρώτο στάδιο, σε μια συνδυασμένη επεξεργασία, θα μπορούσε να μειώσει την ποσότητα θερμότητας που απαιτείται για την αποστείρωση και κατά συνέπεια να βελτιώσει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και τη θρεπτική αξία ενός τροφίμου (Cheftel, 1995). Το ίδιο αποτέλεσμα θα μπορούσε να επιτευχθεί με τη συνδυασμένη δράση της ΥΥΠ με ορισμένες χημικές ουσίες που προκαλούν βλάστηση των σπορίων, όπως είναι κάποια αμινοξέα (ιδιαίτερα η L-αλανίνη), σάκχαρα και ένζυμα (Rönner 1998). Η καταστροφή των σπορίων με ΥΥΠ γίνεται ακόμα πιο δύσκολη, και πολλές φορές αδύνατη, σε αφυδατωμένα τρόφιμα και γενικά σε τρόφιμα με χαμηλό ποσοστό υγρασίας. Για παράδειγμα, η χρήση ΥΥΠ για την καταστροφή των σπορίων σε καρυκεύματα είναι τελείως αναποτελεσματική. Επίσης, τρόφιμα που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις σακχάρων και αλάτων προστατεύουν τα σπόρια των μικροοργανισμών από την ΥΥΠ, μέσω της αφαίρεσης νερού από αυτά λόγω όσμωσης (Cheftel 1995).

Ένα από τα βασικότερα προβλήματα της μεθόδου αυτής είναι η αυξημένη πιεζοαντοχή διαφόρων στελεχών μικροοργανισμών. Μεγάλες αποκλίσεις στην πιεζοαντοχή έχουν παρατηρηθεί όχι μόνο μεταξύ στελεχών του ιδίου είδους, αλλά και μεταξύ κυττάρων του ιδίου πληθυσμού (Metrick και συν. 1989, Hauben και συν. 1997, Alpas και συν. 2000, Karatzas και Bennik, 2002). Οι Hauben και συν. 1997 κατάφεραν να απομονώσουν πιεζοάντοχα στελέχη της *E. coli* μετά από αλλεπάλληλες επεξεργασίες με ΥΥΠ, ανακαλλιεργώντας κάθε φορά το επιζών και θεωρητικά πιο πιεζοάντοχο μέρος του πληθυσμού. Απομονώθηκαν έτσι στελέχη της *E. coli* που μπορούσαν να επιζήσουν ακόμη και σε 800 MPa, σε σύγκριση με τα 300 MPa που επιζούσαν τα κύτταρα του άγριου στελέχους. Παράλληλα, τα στελέχη αυτά ήταν ανθεκτικά και σε διάφορες άλλες αντίξοες συνθήκες, όπως η θέρμανση και το υπεροξείδιο του υδρογόνου. Δυστυχώς, οι γενετικές τροποποιήσεις που οδήγησαν σε αυτήν την εξαιρετική αύξηση της πιεζοαντοχής δεν ήταν δυνατόν να εντοπιστούν. Παρόμοια, οι Karatzas και συν. (2002) κατάφεραν να απομονώσουν ένα πιεζοάντοχο στέλεχος της *Listeria monocytogenes*, ακολουθώντας μόνο μια επεξεργασία με ΥΥΠ στα 400 MPa. Αυτό το στέλεχος, που ονομάστηκε AK01, παρουσίασε αυξημένη αντοχή στη θέρμανση, το όξινο περιβάλλον και το υπεροξείδιο του υδρογόνου. Η αυξημένη πιεζοαντοχή του στελέχους αυτού έδειξε να οφείλεται σε μια μετάλλαξη στο γονίδιο *ctsR*. Η CtsR, σε χαμηλές θερμοκρασίες, έχει τη δυνατότητα να αναστέλλει την παραγωγή των άχρηστων πρωτεϊνών θερμικού σοκ (πχ. ClpP), συνεισφέροντας στην οικονομία ενέργειας του κυττάρου. Ο μηχανισμός βασίζεται στην αγκίστρωση της CtsR στις περιοχές προμότερ, με συνέπεια την αδυναμία παραγωγής mRNA για τις πρωτεΐνες αυτές. Στο AK01 η μετάλλαξη κατέστησε ανενεργή την πρωτεΐνη CtsR και κατά συνέπεια αχρήστευσε τον παραπάνω μηχανισμό, με αποτέλεσμα τη συνεχή παραγωγή πρωτεϊνών όπως η ClpP, προσδίδοντας μια μόνιμα αυξημένη ανθεκτικότητα (Karatzas και συν. 2003). Η παραπάνω μετάλλαξη ήταν υπεύθυνη για την εμφάνιση του 36-66% των πιεζοάντοχων στελεχών της *Listeria monocytogenes,* αποδεικνύοντας το σημαντικό ρόλο των πρωτεϊνών θερμικού σοκ στην πιεζοαντοχή (Karatzas και συν. αδημοσίευτα αποτελέσματα). Παράλ-

ληλα, σε μεταλλαγμένα στελέχη της *E. coli* βρέθηκε ότι το γονίδιο *rpoS* (ρυθμιστής πρωτεϊνών του στρες) σχετίζεται με την πιεζοαντοχή μέσω της ρύθμισης της παραγωγής πρωτεϊνών στατικής φάσης (Robey και συν. 2001). Τα παραπάνω ίσως εξηγούν παρατηρήσεις από άλλους συγγραφείς που ανέφεραν αυξημένη θερμοαντοχή σε πιεζοάντοχους μικροοργανισμούς. Ένα άλλο σημαντικό στοιχείο είναι ότι η *Listeria monocytogenes* εμφανίζει ποικιλία πιεζοάντοχων στελεχών, όπως το AK01, που προκύπτουν φυσικά, αποδεικνύοντας ότι είναι αδύνατον να έχουμε έναν τελείως ομοιογενή πληθυσμό *Listeria monocytogenes* Scott A ως προς το γενότυπο, αλλά και ως προς το φαινότυπο (Karatzas και συν. αδημοσίευτα αποτελέσματα). Το σίγουρο πάντως είναι ότι οι πρωτεΐνες του στρες, και ιδίως αυτές του θερμικού σοκ, παίζουν σημαντικό ρόλο στην πιεζοαντοχή και στην εμφάνιση πιεζοάντοχων στελεχών μικροοργανισμών.

Η αυξημένη αυτή ποικιλότητα, όσον αφορά στην πιεζοαντοχή, ίσως έχει μία θεωρητική εξήγηση, που όμως είναι πάρα πολύ δύσκολο να αποδειχθεί. Από εξελικτικής πλευράς ίσως είναι πιο ακριβές να μιλάμε για προσαρμογή της ζωής από περιβάλλοντα με υψηλή πίεση σε περιβάλλοντα με ατμοσφαιρική πίεση, παρά το αντίστροφο (Turley 2000). Στο μακρινό παρελθόν (3.5 δισεκατομμύρια χρόνια πριν), η ένταση της υπεριώδους ακτινοβολίας του ηλίου ήταν πιθανώς πολύ μεγαλύτερη στην επιφάνεια της γης και στα ρηχά νερά, με αποτέλεσμα να εμποδίζει τελείως την εξέλιξη ζώντων οργανισμών στα σημεία αυτά. Έτσι, κατά πάσα πιθανότητα, η ζωή, θεωρητικά τουλάχιστον, θα μπορούσε να προέλθει μόνο από τα βάθη της θάλασσας. Στοιχείο που συνηγορεί για τα παραπάνω είναι το γεγονός ότι ένα πιεζοάντοχο σύστημα για την έκφραση γονιδίων δεν έχει βρεθεί μόνο σε βακτήρια προσαρμοσμένα σε περιβάλλοντα με υψηλή πίεση, αλλά και σε βακτήρια προσαρμοσμένα στην ατμοσφαιρική πίεση, όπως η *Escherichia coli* (Kato 1995). Πιθανότατα, οι πρώτοι οργανισμοί που εξελίχθηκαν στα βάθη των ωκεανών ανέπτυξαν συστήματα πιεζοαντοχής, με αποτέλεσμα μέχρι σήμερα τέτοια περιβάλλοντα να σφύζουν από ζωή. Καθώς λοιπόν το μεγαλύτερο μέρος της γης καλύπτεται από θάλασσα, η υψηλή πίεση ίσως είναι ένα φιλικό περιβάλλον για ζώντες οργανισμούς, όχι όμως για όλους (Turley 2000, Sharma και συν. 2002).

Η αυξημένη ποικιλότητα της πιεζοαντοχής των βακτηρίων σε επεξεργασίες αδρανοποίησης μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα στη μικροβιολογική ασφάλεια των τροφίμων και στην ποιότητά τους. Κλασική απόδειξη είναι το γεγονός ότι πολλές φορές οι καμπύλες αδρανοποίησης μικροοργανισμών με ΥΥΠ παρουσιάζουν αύξηση της κλίσης τους πάνω από κάποια πίεση (Gould 1995). Η λύση των προβλημάτων αυτών θα μπορούσε να επιτευχθεί με την αύξηση της εξασκούμενης πίεσης. Κάτι τέτοιο προς το παρόν ίσως είναι αδύνατο, λόγω του αυξημένου κόστους και της μεγάλης φθοράς των μηχανημάτων, που λειτουργούν σε εξαιρετικά μεγάλες πιέσεις.

Μία πιθανή λύση σε μια τέτοια περίπτωση μπορεί να αποτελέσει η προσθήκη ενός επιπλέον εμποδίου, το οποίο θα μπορούσε να δράσει συνεργιστικά ή προσθετικά εναντίον των μικροοργανισμών. Έχει αποδειχθεί ότι η χρήση αιθέριων ελαίων μπορεί να παίξει το ρόλο ενός επιπρόσθετου παράγοντα συντήρησης, αν συνδυαστεί με την ΥΥΠ (Karatzas και συν. 2001). Επίσης, η μείωση της θερμοκρασίας από 20°C στον 1°C αύξησε κατά πολύ την αποτελεσματικότητα της συνδυασμένης επεξεργασίας ΥΥΠ και αιθέριων ελαίων. Μία παρόμοια προσέγγιση θα μπορούσε να ακολουθηθεί και με άλλες αντιμικροβιακές ουσίες, όπως οι βακτηριοσίνες, η λυσοζύμη, το α-τερπινένιο και η (R)-(+) λιμονίνη (Adegoke και συν. 1997, Pol και Smid 1999).

ΑΛΛΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΥΥΠ

Προϊόντα όπου χρησιμοποιείται ήδη η ΥΥΠ είναι διάφοροι χυμοί, μαρμελάδες, κέικ ρυζιού, σακέ, σάλτσες για σαλάτες, παράγωγα γιαουρτιού (θανάτωση της καλλιέργειας με ΥΥΠ απαγορεύει τη χρήση του όρου γιαούρτι), ωμά και μαγειρεμένα θαλασσινά, κυρίως για την Ιαπωνική αγορά, αλλά και ωμό κρέας (Cheftel 1995). Άλλα πιθανά προϊόντα στα οποία μπορεί να εφαρμοστεί η ΥΥΠ είναι: ο καπνιστός σολομός, το κρασί, όπου μπορεί να υποκαταστήσει τη χρήση θειικών, και τα αρωματικά εκχυλίσματα, όπου απαιτείται μέγιστη διατήρηση της οσμής τους (Cheftel 1995).

Η χρήση της ΥΥΠ στις μαρμελάδες είναι πολύ ενδιαφέρουσα εφαρμογή, καθώς επιτυγχάνει την παρασκευή τους χωρίς θέρμανση. Η μαρμελάδα αυτή διατηρεί όλα τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (γεύση, οσμή) και τη θρεπτική της αξία, καθώς η ΥΥΠ δεν καταστρέφει τη βιταμίνη C. Στις μαρμελάδες το ιξώδες αυξάνεται κυρίως λόγω της μετουσίωσης των πρωτεϊνών. Όταν γίνεται χρήση θέρμανσης, αυτό επιτυγχάνεται μέσω της καταστροφής των ομοιοπολικών δεσμών, ενώ με χρήση της ΥΥΠ επιτυγχάνεται μέσω της καταστροφής των υδρόφοβων και ιονικών αλληλεπιδράσεων. Στη δεύτερη περίπτωση επιτυγχάνεται μεγαλύτερη διατήρηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (γεύση, οσμή). Επιπλέον, είναι δυνατή η αύξηση ή η μείωση του ιξώδους της μαρμελάδας με αύξηση ή μείωση της πίεσης, αντίστοιχα. (Farr 1990).

Η ΥΥΠ μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την αδρανοποίηση ενζύμων ή τη βελτίωση της δράσης τους. Γενικότερα, σχεδόν όλα τα ένζυμα, ως πρωτεϊνικά μόρια, αδρανοποιούνται μέσω της ΥΥΠ, λόγω της ευαίσθητης τριτοταγούς και δευτεροταγούς δομής τους. Μερικές εξαιρέσεις στον παραπάνω κανόνα αποτελούν η πηκτινική μεθυλεστεράση, η περοξειδάση και η πολυφαινολική οξειδάση. Στους χυμούς εσπεριδοειδών, επί παραδείγματι, η αδρανοποίηση της πηκτινικής μεθυλεστεράσης απαιτεί 1000 MPa για 10 λεπτά στους 20°C (Ogawa και συν. 1990), που είναι εξαιρετικά μεγάλη πίεση. Έτσι, λοιπόν, μια κοινή επεξεργασία με ΥΥΠ στα 300 – 400 MPa θα παστερίωνε το χυμό, αλλά δε θα του έδινε σταθερότητα λόγω της εναπομένουσας ενζυμικής δραστηριότητας. Λύση στην προκειμένη περίπτωση θα μπορούσε να δώσει κάποιου εί-

δους ήπια θερμική επεξεργασία, συντήρηση υπό ψύξη ή ενζυμικοί αναστολείς. Παρ' όλα αυτά, οι επεξεργασμένοι με ΥΥΠ χυμοί διατηρούνται 3-5 εβδομάδες υπό ψύξη, σε αντίθεση με τους φρέσκους που διατηρούνται μόνο μία εβδομάδα (Cheftel 1995). Όπως αναφέρθηκε πριν, μπορούμε να επιτύχουμε βελτίωση της δράσης μιας μικρής ομάδας ενζύμων. Για παράδειγμα, το ένζυμο θερμολυσίνη υδρολύει πλήρως τη β-λακτογλοβουλίνη στους 200 MPa, ενώ αυτό συμβαίνει μόνο μερικά στους 25°C και σε ατμοσφαιρική πίεση. Η β-λακτογλοβουλίνη είναι δυνατόν να προκαλέσει αλλεργία σε κάποια άτομα και η πλήρης αφαίρεσή της έχει ιδιαίτερη σημασία για την παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων που θα καταναλωθούν από τα παραπάνω άτομα. Αυτό εναλλακτικά θα μπορούσε να επιτευχθεί με τη χρήση ΥΥΠ (Farr 1990).

Μια άλλη δυνατότητα που δίνει η ΥΥΠ βασίζεται στην ιδιότητα του νερού να παραμένει υγρό κάτω από μεγάλη πίεση, ακόμη και αν η θερμοκρασία πέσει αρκετούς βαθμούς κάτω από το μηδέν (π.χ. 200MP στους -20°C). Εάν η πίεση στο τρόφιμο ή στο βιολογικό δείγμα διακοπεί απότομα, μετά την πτώση της θερμοκρασίας στους-20 °C, τα μόρια του νερού θα βρεθούν στιγμιαία σε ατμοσφαιρική πίεση και θερμοκρασία κατάψυξης, με αποτέλεσμα την άμεση πήξη του συστήματος σε πάγο. Όπως είναι γνωστό, όσο ταχύτερη είναι η διαδικασία της κατάψυξης τόσο μικρότεροι και οι παγοκρύσταλλοι που δημιουργούνται. Με την παραπάνω μέθοδο επιτυγχάνεται το μικρότερο δυνατό μέγεθος κρυστάλλων, που έχει ως αποτέλεσμα τη μικρότερη δυνατή καταστροφική τους δράση στο κατεψυγμένο τρόφιμο ή στο βιολογικό δείγμα. Η μέθοδος αυτή ονομάζεται και κατάψυξη με μικροκρυστάλλωση. Κατά τον αντίστροφο τρόπο με την προηγούμενη διαδικασία μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε την ΥΥΠ για την ταχύτατη απόψυξη τροφίμων ή γενικότερα βιολογικών δειγμάτων. Το δείγμα που βρίσκεται σε θερμοκρασία κατάψυξης, μόλις υποβληθεί σε ΥΥΠ, ρευστοποιείται ταχύτατα, παρ' όλο που συνεχίζει να βρίσκεται σε χαμηλή θερμοκρασία. Μετά την άνοδο της θερμοκρασίας απελευθερώνεται η πίεση και το δείγμα βρίσκεται ανέπαφο σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (Cheftel 1995).

ΕΠΙΛΟΓΟΣ

Στο μέλλον η ΥΥΠ θα εφαρμοστεί σε περισσότερα τρόφιμα, σε συνδυασμό με άλλες τεχνικές, ακολουθώντας τις αρχές της Τεχνολογίας Εμποδίων. Το κόστος χρήσης της μεθόδου μειώνεται θεαματικά χρόνο με το χρόνο και τα προϊόντα γίνονται ολοένα και πιο προσιτά στο μέσο καταναλωτή, ενώ η ποιότητά τους είναι εξαιρετική. Σε πολλές περιπτώσεις είναι δυνατόν να αντικαταστήσει και τη θερμική επεξεργασία, καθώς δεν υπάρχουν πολλές τεχνικές που να αφήνουν ανεπηρέαστη τη γεύση και την οσμή του τροφίμου. Ελπίζουμε ότι η Βιομηχανία, η Έρευνα και η Αγορά της Ελλάδας συνεργαζόμενες θα μπορέσουν να εκμεταλλευτούν τα πλεονεκτήματα και τις δυνατότητες που δίνει αυτή η νέα και πολλά υποσχόμενη Τεχνολογία. ❑

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ - REFERENCES

Adegoke GO, Iwahashi H, and Komatsu Y (1997) Inhibition of Saccharomyces cerevisiae by combination of hydrostatic pressure and monoterpenes. J Food Sci, 62: 404-405.

Alpas H, Kalchayanand N, Bozoglu F and Ray B (2000) Interactions of high hydrostatic pressure, pressurisation temperature and pH on death and injury of pressure-resistant and pressure-sensitive strains of foodborne pathogens. Int J Food Microbiol, 60: 33-42.

Casadei MA and Mackey BM (1997) The effect of growth temperature on pressure resistance of Escherichia coli. In: High Pre_sure Research in the Biosciences and Biotechnology ed. Heremans, Leuven University Press, Leuven, Belgium,: 281-282.

Cheftel C (1995) Review: High-pressure, microbial inactivation and preservation. Food Sci Technol Int 1: 75-90.

Farr D (1990) High Pressure technology in the food industry. Trends in Food Sci & Technol (July): 14-17.

Garcia AF, Heindl H, Voigt H, Buttner M, Wienhold D, Butz P, Starke J, Tauscher B and Pfaff E (2004) Reduced proteinase K resistance and infectivity of prions after pressure treatment at 60oC. J Gen Virol 85: 261-264

Gould GW (1995) The microbe as high pressure target. In: High Pressure Processing of Foods eds. Ledward DA, Johnston DE, Earnshaw RG and Hasting AMP Nottingham University Press, Nottingham,: 27

Hauben KJA, Bartlett DH, Soontjens CCF, Cornelis K, Wuytack EY and Michiels CW (1997) Escherichia coli mutants resistant to inactivation by High Hydrostatic Pressure. Appl Environ. Microbiol, 63: 945-950

Hayakawa I, Kanno T, Yoshiyama K, and Fujio Y (1994) Oscillatory compared with continous high pressure sterilisation of Bacillus stearothermophilus spores. J Food Sci, 59:164-167

Heremans K (1982) High pressure effects on proteins and other biomolecules. Ann Rev Biophys Bioeng, 11:1-21.

Hite BH (1899) The effect of pressure in the preservation of milk. Bulletin of West Virginia University of Agriculture Experiment Station Morgantown, 58:15-35.

Iwahashi H, Kaul SC, Obuchi K and Komatsu Y (1991) Induction of barotolerance by heat shock treatment in yeast. FEMS Microbiol Lett, 80:325-328.

Iwahashi H, Fujii S, Obuchi K, Kaul SC, Sato A and Komatsu Y (1993) Hydrostatic pressure is like high temperature and oxidative stress in the damage it causes to yeast. FEMS Microbiol Lett, 108:53-58.

Kalchayanand N, Sikes A, Dunne CP and Ray B (1998) Factors influencing death and injury of foodborne pathogens by hydrostatic pressure-pasteurisation. Food Microbiol, 15, 207-214.

Karatzas KAG, Kets EPW, Smid EJ and Bennik, MHJ (2001) The combined action of carvacrol and high hydrostatic pressure on Listeria monocytogenes Scott A. J App Microbiol, 90: 463-469.

Karatzas KAG and Bennik MHJ (2002) Characterisation of a Listeria monocytogenes Scott A isolate with high tolerance to high hydrostatic pressure. Appl & Environm Microbiol, 68:3183-3189

Karatzas KAG, Wouters JA, Gahan CGM, Hill C, Abee T and Bennik MHJ (2003) The CtsR regulator of Listeria monocytogenes contains a variant glycine repeat region that affects piezotolerance, stress resistance, motility and virulence. Mol Microbiol, 49: 1227-1238.

Kato C, Smorawinska M, Sato T and Horikoshi K (1995) Cloning and expression in Escherichia coli of a pressure regulated promoter region from a barophilic bacterium, strain DB6705. J Mar Biotechnol 2:125-129.

Kobori H, Sato M, Tameike A, Hamada K, Shimada S, and Osumi M (1995) Ultrastructur effects of pressure stress to the nucleus in Saccharomyces cerevisiae: a study by immunoelectron microscopy using frozen thin sections. FEMS Microbiol Lett, 132:253-258.

Kitching JA (1957) Effects of high hydrostatic pressures on the activity of flagellates and ciliates. J Exp Biol, 34: 494-510.

Knorr D (1994) Hydrostatic pressure treatment of Food: microbiology. In: New Methods of Food Preservation ed. Gould GW. London, Blackie: 159-175

Knorr D, Heinz V, Lee D-U, Schlüter O, and Zenker M (1998) High pressure processing of foods: introduction. In Proceedings of VTT symposium "Fresh novel foods by high pressure" ed. Autio, K. Technical Research Centre of Finland (VTT): 9-20.

MacDonald AG (1992) Effects of high hydrostatic pressure on natural and artificial membranes. In High Pressure and Biotechnology ed. Balny C, Hayashi R, Heremans K and Masson P Paris INSERM and John Libbey: 67-74.

Mackey BM, Forestiére K, and Isaacs N (1995) Factors affecting the resistance of Listeria monocytogenes to high hydrostatic pressure. Food Biotechnol, 9:1-11.

Metrick C, Hoover DG, and Farkas DF (1989) Effects of high hydrostatic pressure on heat-resistant and heat-sensitive strains of Salmonella. J Food Sci, 54: 1547-1549.

Meyer E, Hohn G, Jurkiewicz E, Fischer S, Hunsmann G, Meyer-Pittroff R, Petry H and Lucke W (2000) Hydrostatic Pressure: A newly developed inactivation procedure for HIV-1 primary isolates to produce a whole inactivated virus vaccine (WIV). In: The First International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology (HPBB 2000), Program & Abstracts, November 26. – 30. Kyoto, Japan: 73

Mozhaev VV, Heremans K, Frank J, Masson P, and Balny C (1996) High pressure effects on protein structure and function. Proteins: Structure, Function, and Genetics 24:81-91.

Nagakami T, Shigehisa T and Ohmori T (1994). Inactivation of enveloped viruses by high hydrostatic pressure. In High Pressure Bioscience eds. Hayashi R Kunugi S, Shimada S, Suzuki A, Kyoto: San-Ei Suppan Co: 164-171.

Ogawa H, Fukuhisa K, Kubo Y, and Fukumoto H (1990) Pressure inactivation of yeasts, molds, and pectinesterase in Satsuma mandarin juice: effects of juice concentration, pH, and organic acids, and comparison with heat sanitation. Agricultural and Biological Chemistry 54(5): 1219-1225.

Okazaki T, Yoned T, Suzuki K (1994) Combined effects of temperature and pressure on sterilisation of Bacillus subtilis spores. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 41:536-541.

Palou E, L_pez-Malo A, Barbosa-C_novas GV, and Swanson BG (1999) High-Pressure treatment in food preservation. In: Handbook of Food Preservation ed. Rahman, M.S. New York, Dekker: 533-576.

Patterson MF, Quinn M, Simpson R and Gilmour A (1995) The sensitivity of vegetative pathogens to High Hydrostatic Pressure in phosphate buffered saline and foods. J Food Prot 58: 542-529.

Pol IE, and Smid EJ (1999) Combined action of nisin and carvacrol on Bacillus cereus and Listeria monocytogenes. Lett Appl Microbiol, 29:166-70

Rönner U (1998) High pressure processing of foods: resistance of microorganisms exposed to High Pressure. In Proceedings of VTT symposium "Fresh novel foods by high pressure" ed. Autio, K. Technical Research Centre of Finland (VTT): 9-20.

Robey M, Benito A, Hutson RH, Pascual C, Park SF, Mackey BM (2001) Variation in resistance to high hydrostatic pressure and rpoS heterogeneity in natural isolates of Escherichia coli O157:H7. Appl Environ Microbiol, 67(10):4901-7.

Salton MRJ (1994) The bacterial cell envelope – a historical perspective. In Bacterial cell wall ed. Ghuysen, J.-M., and Hakenbeck, R. Elsevier, Amsterdam: 1-22.

Sato M, Kobori H, Shimada S, and Osumi M (1995) Pressure-stress effects on the ultrastructure of cells of the dimorphic yeast Candida tropicalis. FEMS Microbiol Lett, 131:11-15.

Sato M, Kobori H, Ishijima SA, Feng ZH, Hamada K, Shimada S, and Osumi M (1996) Schizosaccharomyces pombe is more sensitive to pressure stress than Saccharomyces cerevisiae. Cell Struct and Funct 21:167-174.

Sharma A, Scott JH, Cody GD, Fogel ML, Hazen RM, Hemley RJ and Huntress WT (2002) Microbial activity at gigapascal pressures. Science 295: 1514-1517

Shimada S, Andou M, Naito N, Yamada N, Osumi M, and Hayashi R (1993) Effects of hydrostatic pressure on the ultrastructure and leakage of internal substances in the yeast Saccharomyces cerevisiae. Appl Microbiol Biotechnol 40: 123-131.

Smelt JPPM (1998) Recent advances in the microbiology of high pressure processing. Trends Food Sci and Technol, 9: 152-158.

Spilimbergo S, Dehghani F, Bertucco A and Foster NR (2003) Inactivation of bacteria and spores by Pulse Electric Field and Pressure CO2 and Low Temperature. Biotech & Bioeng, 82:118-125

Turley C (2000) Bacteria in the cold deep-sea benthic boundary layer and sediment-water interface of the NE Atlantic. FEMS Microbiol Ecol 33:89-99.

Welch TJ, Farwell A, Neidhardt FC and Bartlett DH (1993) Stress response of Escherichia coli to elevated hydrostatic pressure. J Bacteriol, 175:7170-7177.

Wemekamp-Kamphuis HH, Karatzas KAG, Wouters, JA and Abee T (2002) Enhanced levels of cold shock proteins in Listeria monocytogenes LO28 upon exposure to low temperature and high hydrostatic pressure. Appl & Environm Microbiol, 68: 456-463.

Yayanos AA and Pollard EC (1969) A study of the effects of Hydrostatic pressure on macromolecular synthesis in Escherichia coli. Biophys J, 9: 1464-1482.

Yayanos AA (1995) Microbiology to 10,500 metres in the deep sea. Annu Rev Microbiol 49: 777-805.

Zobell CE and Cobert AB (1963) Filament formation by Escherichia coli at increased hydrostatic pressures. J Bact, 87: 710-719.