



HAL
open science

Traitements par hautes pressions hydrostatiques des denrées alimentaires : état de l'art

Marion Lerasle, Frédérique Duranton, Hélène Simonin, Jeanne Marie J. M. Membré, Romuald Chéret, Marie de Lamballerie, Sandrine Guillou, Michel M. Federighi

► To cite this version:

Marion Lerasle, Frédérique Duranton, Hélène Simonin, Jeanne Marie J. M. Membré, Romuald Chéret, et al.. Traitements par hautes pressions hydrostatiques des denrées alimentaires : état de l'art. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 2012, 163 (12), pp.595-614. hal-02650539

HAL Id: hal-02650539

<https://hal.inrae.fr/hal-02650539>

Submitted on 29 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Traitements par hautes pressions hydrostatiques des denrées alimentaires : état de l'art

M. LERASLE^{1,2}, F. DURANTON^{3,4}, H. SIMONIN^{3,4}, J.M. MEMBRÉ^{2,1}, R. CHÉRET⁵, M. DE LAMBALLERIE^{3,4}, S. GUILLOU^{1,2}, M. FEDERIGHI^{1,2*}

¹Lunam Université, Oniris, UMR1014 Secalim, Atlanpôle-La Chantrerie, BP 40706, Nantes, F-44307, FRANCE.

²INRA, Secalim, Nantes, F-44307, FRANCE.

³Lunam Université, Oniris, UMR6144 GEPEA, Rue de la Géraudière, BP 82225, Nantes, F-44322, FRANCE.

⁴CNRS, GEPEA, Nantes, F-44322, FRANCE.

⁵CTCPA, Rue de la Géraudière, BP 82225, Nantes, F-44322, FRANCE.

*Auteur chargé de la correspondance : michel.federighi@oniris-nantes.fr

RÉSUMÉ

L'utilisation de la pression, bien connue dans le monde de la géologie, de la géochimie et de la chimie, a fait son apparition dans les Industries Agro-Alimentaires il y a moins d'une vingtaine d'années en Europe. Le traitement d'aliments par Hautes Pressions Hydrostatiques (HPH), quelquefois dénommé Pascalisation, connaît aujourd'hui un fort et constant développement partout dans le monde. De cette période initiale pionnière, au début des années 1990, à l'existence aujourd'hui de plus de 160 installations industrielles dans le monde et de plus en plus de produits traités par Hautes Pressions Hydrostatiques dans les linéaires de la grande distribution, le chemin parcouru est riche de très nombreuses publications scientifiques ou de vulgarisation s'intéressant le plus souvent aux effets du traitement sur les caractéristiques organoleptiques et technologiques des aliments ou sur les microorganismes d'intérêt. Il nous semble nécessaire et utile, aujourd'hui, d'effectuer une synthèse bibliographique sur ces deux principaux sujets.

Mots clés : Aliment, hautes pressions hydrostatiques, revue, procédés, microorganismes.

SUMMARY

High hydrostatic pressure treatment of foods : state of art

High Pressure has traditionally been used for many years in the fields of geology and chemistry. This technique was first applied in the food industry, in Japan, in the late 1980s. This technology, also named pascalization, consists in maintaining the product at very high hydrostatic pressure (100-1000 MPa) for a definite time and temperature. The high hydrostatic pressure treatment is considered as a nonthermal process capable of inactivating and eliminating pathogenic and food spoilage microorganisms. This novel technology has great potential improving food safety and extending food products shelf-life while preserving their organoleptic properties. Today, more than 160 industrial vessels are under work and more and more high-pressure-treated products are available in the market. In this paper, effects of high hydrostatic pressure treatment on food constituents and microorganisms are reviewed.

Keywords: Foods, high hydrostatic pressure, review, treatment, micro-organisms.

Introduction

L'utilisation de la pression comme paramètre thermodynamique est très ancienne et très répandue dans les domaines de la géologie, de la géochimie et de la chimie. Il est également connu depuis la fin du 19^{ème} siècle que l'on peut utiliser ce paramètre pour le traitement d'aliments. Tombé en désuétude pour cette application, le facteur pression a été re-découvert au Japon dans les années 80 comme une alternative industrielle possible aux traitements thermiques et ionisants des aliments. De fait, le procédé de traitements des aliments par hautes pressions hydrostatiques s'est développé à travers le monde depuis le début des années 1990, comme en témoigne l'évolution au cours du temps du nombre d'installations industrielles. On peut remarquer que ce nombre a augmenté régulièrement depuis 1990 ; on comptait, en novembre 2011, 162 enceintes hautes pressions industrielles dans le monde, dont plus d'un quart en Europe (figure 1). Ceci traduit l'essor que connaissent les produits alimentaires traités par hautes pressions dans le monde. En effet, le procédé permet de traiter une large gamme de produits à base de fruits et

légumes, des produits de la mer, des produits carnés, des produits laitiers. Ces produits sont commercialisés et représentent près de 250 000 tonnes pour l'année 2009 (Tableau I). Entre 2009 et 2011, le nombre d'installations vendues par les manufacturiers a augmenté et les nouvelles machines sont plus résistantes, plus performantes et productives. La production mondiale totale d'aliments traités par hautes pressions pour l'année 2011 est estimée à environ 350 000 tonnes (NC Hyperbaric, communication personnelle). Ainsi, apparait il y a moins d'une vingtaine d'années en Europe, le traitement d'aliments par Hautes Pressions Hydrostatiques (HPH) connaît aujourd'hui un développement indéniable partout dans le monde, à l'exception de l'Afrique. La demande croissante pour des aliments de moins en moins transformés mais, néanmoins, à haut niveau de sécurité et à durée de vie prolongée n'est pas étrangère à celui-ci. De cette période initiale pionnière, au début des années 1990, à l'existence de nos jours de plus en plus de produits traités par Hautes Pressions Hydrostatiques dans les linéaires de la grande distribution, le chemin parcouru est riche de nombreuses publications scientifiques ou de vulgarisation dont il nous semble nécessaire et utile, aujourd'hui, d'effectuer la synthèse.

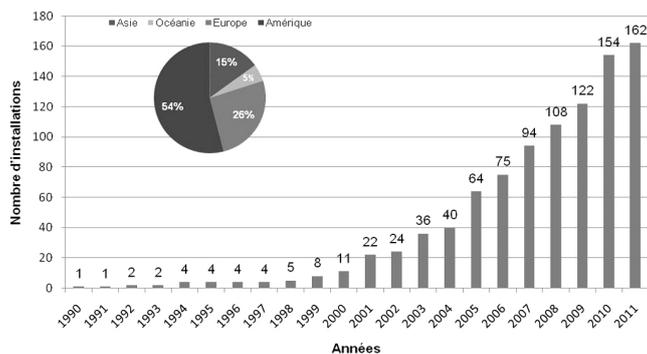


FIGURE 1 : Evolution au cours du temps et répartition dans le monde du nombre des enceintes industrielles hautes pressions (C. Tonello (NC Hyperbaric), communication personnelle).

GENERALITES SUR LES HAUTES PRESSIONS HYDROSTATIQUES

Principe de Le Chatelier et définition du procédé

Il est connu depuis longtemps que les hautes pressions ont une action directe sur la matière biologique qui s'explique par le principe de Le Chatelier énoncé en 1884 : « tout phénomène accompagné d'une diminution de volume est favorisée par une augmentation de la pression ». Ce principe traduit le fait que la pression agit sur de nombreuses molécules et engendre des perturbations telles que des changements de conformation moléculaire, des interactions intramoléculaires, des modifications de réactions chimiques et des changements d'état. Par conséquent, les liaisons de faible énergie telles que les liaisons hydrogènes, hydrophobes ou ioniques sont affectées par les hautes pressions. Par contre, le procédé n'a pas d'effet sur les liaisons de forte énergie comme les liaisons covalentes puisque leur rupture s'accompagnerait d'une forte augmentation de volume ([43], [40]). Peu de temps après l'énoncé de ce principe les premiers essais de traitements d'aliments sont intervenus, l'histoire retiendra sans doute que la première publication scientifique sur ce sujet date de 1884 ([122, 121, 128, 129]). Quelques années après, HITE en 1899 ([62]) publia ses travaux notamment sur le traitement du lait contaminé par des salmonelles. La rupture de l'enceinte de traitement et la contamination accidentelle d'un des membres de l'équipe de Hite sonna le glas de ses travaux à cette époque ([45]). Ce n'est qu'environ trois décennies plus tard que l'on retrouve dans la littérature scientifique des résultats publiés sur le traitement de micro-organismes par de hautes pressions, grâce aux travaux de Basset et Macheboeuf présentés dans les comptes-rendus de l'Académie des Sciences ([10]).

L'utilisation des hautes pressions pour le traitement d'aliments ne connaîtra cependant pas de développement à cette époque, il faudra attendre la fin des années 80 pour qu'un important programme de Recherche-Développement au Japon ne voit le jour sous l'égide de la Japanese Research & Development Association for High Pressure Technology in Food Industry en 1989. L'impulsion créée par ce programme se propagea rapidement dans les autres pays, notamment ceux comportant les principaux manufacturiers et fabricant de machines (Etats-Unis, France, Espagne, Allemagne).

Produits	Production en tonnes pour 2009
Produits à base de fruits et légumes	87 750
Jus	17 015
Produits à base de viande	90 315
Produits de la mer	38 808
Autres produits	16 125
Total	250 413

TABLEAU I : Estimation de la production mondiale d'aliments traités par hautes pressions en 2009 (C. Tonello (NC Hyperbaric), communication personnelle)

La pression (P) est définie comme l'application d'une force (F) sur une surface (S) et représentée mathématiquement par la relation $P = F/S$. L'unité du Système International est le Pascal (Pa) qui représente l'application d'une force de 1 Newton/m². Parce que 1 Pa correspond à une très faible pression, c'est l'un de ses multiples le Mégapascal (MPa = 10⁶ Pa) qui est utilisé pour décrire les traitements. Les équivalences suivantes sont aujourd'hui admises : 1 MPa = 0,1 bar = 0,101 Atmosphère.

A ce jour, dans les industries agro-alimentaires, le traitement hautes pressions consiste à soumettre les aliments à de fortes pressions pendant un temps et à une température préalablement déterminés dans une enceinte close de forme cylindrique appelée chambre de compression. Généralement, le fluide transmetteur de la pression est l'eau et, la loi de Pascal indique que, à l'intérieur de la chambre de compression, la pression est identique (isostatique) en tous les points de son volume. Ces deux derniers éléments expliquent l'appellation officielle retenue pour ces traitements dits « par Hautes Pressions Hydrostatiques ». La référence à la loi de Pascal est également en lien avec le vocable de « Pascalisation » utilisé pour désigner ces traitements, principalement dans la presse professionnelle. Il s'agit donc d'un procédé de préservation non thermique qui permet de traiter des aliments solides, pâteux ou liquides à des pressions allant généralement de 200 à 700 MPa (2 000 à 7 000 bars) pour une température et une durée de traitement données. Nous verrons plus tard (*Cf. infra*) que la majorité des traitements industriels se font entre 10 et 25°C et ne dépasse généralement pas 15 minutes de palier à la pression cible. La pression instantanée et isostatique transmise ainsi à l'aliment permet d'éliminer un certain nombre d'agents responsables de problèmes d'hygiène des aliments, et peut aboutir dans certains cas à une transformation de celui-ci ([146]).

Mode d'application et développement du procédé

Les équipements permettent deux modes d'application de la pression : une compression dite « directe » ou une compression dite « indirecte ». La compression directe est décrite dans la littérature comme un mode d'application plutôt réservé aux aliments liquides (jus de fruits) injectés dans la chambre de compression et mis en pression directement par un piston poussé par de l'eau sous pression. Ce mode d'application permet des vitesses de compression élevées (1 500 MPa/min) mais

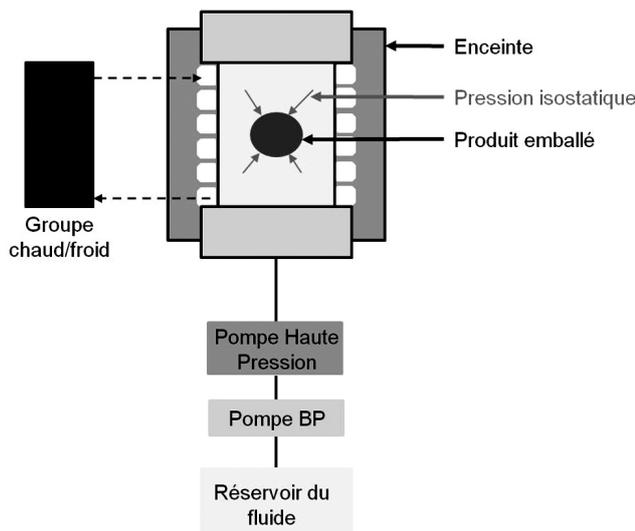


FIGURE 2 : Représentation schématique d'un système dit par « compression indirecte ».

peut poser des problèmes d'étanchéité au niveau du piston et nécessite un conditionnement aseptique des produits après traitement. Le nombre d'installations industrielles en compression directe est inférieur à une dizaine dans le monde. L'équipement le plus couramment utilisé dans les industries est un système dit par « compression indirecte ». Les produits, dans un emballage souple, sont placés dans une enceinte à double enveloppe, de volume constant, à l'intérieur de laquelle passe le fluide de pressurisation dont la température peut être réglée. Ce système est dit « indirect » car il utilise dans un premier temps une pompe Basse Pression qui puise de l'eau dans un réservoir, celle-ci est ensuite envoyée dans une pompe haute pression qui la renvoie alors sous pression à l'intérieur de l'enceinte (figure 2). Dans un premier temps, l'eau pressurisée va remplacer l'air autour du produit puis va permettre une augmentation de la pression dans l'enceinte jusqu'à la valeur souhaitée. La montée en pression se fait à une vitesse allant de 100 à 200 MPa/min. Le système nécessite peu d'énergie et, comme vu précédemment, la pression est isostatique, c'est-à-dire qu'elle est répartie de manière uniforme dans l'enceinte mais aussi dans le produit permettant à celui-ci de limiter sa déformation. Une vanne de fermeture permet le maintien en pression sans déperdition jusqu'en fin de palier de traitement où l'ouverture de la vanne fera chuter rapidement la pression. Les produits ainsi traités seront récupérés après ouverture de la chambre de compression. Il s'agit d'un traitement discontinu dit « en batch » ([45]).

PARTIE 1 : EFFETS DES HAUTES PRESSIONS SUR LES MICROORGANISMES

Utilisé comme traitement de préservation des aliments, il est aujourd'hui bien connu que les hautes pressions permettent de réduire les flores pathogènes et d'altération contribuant ainsi à l'augmentation de leur sécurité et de leur salubrité microbiologiques. La question du mécanisme d'inactivation des microorganismes s'est posée très tôt, il est admis aujourd'hui qu'il

convient de parler des mécanismes d'action, au pluriel. En effet, la pression, à l'instar de la température, est un facteur d'inactivation global, à l'échelle du microbe. Elle va donc agir sur la globalité des compartiments du micro-organisme. Les compartiments les plus baro-sensibles seront évidemment les premiers affectés et endommagés. Ainsi, il existe chez les micro-organismes plusieurs cibles potentielles dont le nombre et l'intensité des endommagements conduiront à l'inactivation totale, partielle ou nulle d'une population microbienne soumise à la pression. Il est important de noter que la très grande majorité des publications sur le sujet sont consacrées à des bactéries, le plus souvent des pathogènes à transmission alimentaire. Cet état de la bibliographie actuelle explique le contenu, majoritairement bactérien, de cette deuxième partie portant sur les effets des hautes pressions hydrostatiques sur les microorganismes.

Action de la pression sur les microorganismes

Des études de physiologie cellulaire de microorganismes traités par hautes pressions ont montré que l'inactivation des microorganismes était associée à une accumulation de dommages physiologiques et fonctionnels. En effet, il a été suggéré que l'inactivation induite par la pression est due à des dommages situés au niveau de la membrane cellulaire, à une dénaturation des protéines, à des modifications de l'activité enzymatique et de la conformation des ribosomes ([82]). Ces dommages peuvent conduire alors à une interruption des fonctions cellulaires responsables de la reproduction et de la survie ([148]). Si ces dommages dépassent la capacité des cellules endommagées à recouvrir après traitement, les cellules meurent.

Morphologie cellulaire

Il paraît évident que lorsqu'un micro-organisme est soumis à une forte pression, il subit une contrainte pouvant conduire à l'éclatement de la cellule ; c'est un phénomène mécanique très important pour les microorganismes sensibles à la pression ([44]). Ainsi, des modifications morphologiques des cellules causées par de très fortes pressions ont été observées par microscopie. MANAS et MACKEY ([83]) ont visualisé, chez *E. coli*, un éclaircissement du cytoplasme après un traitement de 300 et 600 MPa. RITZ *et al* ([125]) ont mesuré le volume cellulaire moyen d'une population de *Listeria*, après un traitement de 400 MPa et ont montré que la taille des cellules après traitement n'était pas modifiée mais que de grosses cicatrices apparaissaient à la surface. WON PARK *et al* ([152]) ont visualisé une dissociation de la paroi et de la membrane plasmique sur *Lactobacillus viridescens* pour des pressions supérieures à 400 MPa. D'autres observations ont été faites : une compression des vacuoles de gaz, une contraction de la paroi avec apparition de pores, une coagulation des protéines membranaires et un éclatement des cellules conduisant à la présence de fantômes cellulaires sur les microphotographies ([29]).

Intégrité de la membrane cellulaire

La membrane cellulaire est un composant indispensable aux cellules vivantes ; elle agit comme barrière principale entre l'environnement externe et l'environnement intracellulaire. Sa structure permet à la cellule d'assurer ses fonctions biolo-

giques. Elle est connue pour être l'une des cibles privilégiées des Hautes Pressions ([24]). La perte de l'intégrité membranaire se traduit par une séquence d'événements néfastes à la viabilité cellulaire : une fuite du contenu intra cytoplasmique, un changement de la pression osmotique, une perte de fonction de certaines enzymes telles que la F_0F_1 ATPase ([84]). Ces lésions vont alors perturber le fonctionnement de la membrane et aboutir à une plus grande perméabilité membranaire et une déstabilisation des gradients électrochimiques menant à la mort de la cellule.

Perméabilité membranaire

MANAS et MACKEY ([83]) ont observé, chez *E. coli*, que la concentration en protéines dosées dans le milieu extracellulaire était plus importante après un traitement hautes pressions que dans le cas où les cellules n'avaient subi aucun traitement, suggérant ainsi une fuite des protéines intracellulaires et par conséquent une perméabilisation de la membrane. Les travaux de HAYERT en 1999 ([59]) ont montré chez des levures une augmentation du relargage des ions calcium et potassium après un traitement à 200 et 300 MPa par rapport à des cellules non traitées.

Des marqueurs fluorescents spécifiques tels que l'Iodure de Propidium (IP) peuvent être utilisés pour évaluer l'endommagement membranaire. Certains auteurs ont ainsi mis en évidence, une perméabilisation des membranes d'*E. coli* et de *Lactobacillus plantarum* induite par les hautes pressions ([149], [49], [73]). GANZLE et VOGEL ([49]) ont par ailleurs observé chez des cellules d'*E. coli* traitées par hautes pressions, une augmentation de la fluorescence de la sonde 1-*N*-phenyl-naphthylamine (NPN) traduisant une perméabilisation de la membrane externe.

Fluidité membranaire

Un des mécanismes possibles à l'origine de la perméabilisation membranaire après un traitement hautes pressions est une modification de la composition des lipides membranaires et / ou de leur phase de transition ([24]; [141]). De plus, la pression provoque un resserrement des chaînes carbonées des phospholipides membranaires, ce qui modifie la fluidité de la membrane ([69]). Plus tard, KATO *et al* ([70]) confirment que des pressions supérieures à 200 MPa provoqueraient une diminution réversible de la fluidité membranaire de la bicouche lipidique associée à un changement de conformation partiellement réversible de la pompe Na^+/K^+ -ATPase créant ainsi des tunnels transmembranaires. D'autres auteurs ont montré que la fonction des protéines membranaires était influencée par la fluidité des lipides autour de celles-ci ([149]). Par ailleurs, la présence de davantage d'acides gras insaturés dans la composition de la membrane bactérienne, la rendant ainsi plus fluide, permet aux bactéries de mieux résister à la pression ([29]; [24]; [8]; [83]).

Mouvements d'ions et potentiel membranaire

WOUTERS *et al* ([153]), ont montré, chez *Lactobacillus plantarum* traité à 250 MPa, que l'activité de la F_0F_1 ATPase était réduite après un traitement hautes pressions compromettant ainsi la capacité de la cellule à exporter les protons, donc à maintenir son gradient de pH (Δ pH) et donc à réguler son pH interne. Or, la modification du pH interne entraîne une perte

de la viabilité cellulaire. Cette observation a également été faite par MANAS et MACKEY ([83]) chez *E. coli*. Une diminution du Δ pH induite par la pression a également été observée chez *Salmonella typhimurium* traité entre 250 et 400 MPa par RITZ *et al* ([123]).

Les hautes pressions, en endommageant la perméabilité de la membrane, affectent ses transports ioniques ([70]). CHEFTEL ([29]) et MOUSSA *et al.* ([99]) ont observé une inactivation d'*E. coli* due à un changement de conformation de la pompe Na^+/K^+ -ATPase entraînant une sortie de K^+ et une accumulation de Na^+ dans la cellule conduisant à une acidification cellulaire.

Certaines protéines membranaires contribuent à l'homéostasie cellulaire c'est-à-dire la capacité de la cellule à maintenir un environnement stable en dépit des perturbations extérieures. RITZ *et al* ([123]) ont montré chez *Salmonella typhimurium* après un traitement de 600 MPa que la majorité des protéines de la membrane externe disparaissaient tandis que les protéines majeures OmpA, OmpC et LamB semblaient résistantes. Des mesures du potentiel membranaire ont également été effectuées par RITZ *et al* ([125, 126]) chez *Listeria monocytogenes*. Les résultats ont montré une dépolarisation de la membrane. Les hautes pressions entraîneraient une diminution du potentiel membranaire et par conséquent une perte de fonction de la membrane.

Action sur le matériel génétique

Du fait du renforcement par la pression des liaisons hydrogènes maintenant leur structure en double hélice, les acides nucléiques sont en principe très stables aux traitements hautes pressions ([63]; [81]). Cependant, dans certains cas, il a été observé sur des microphotographies une condensation du matériel génétique chez *Listeria monocytogenes* et *Salmonella typhimurium* après un traitement hautes pressions ([81]) qui pourrait être attribué à l'action hydrolysante d'endonucléases devenues stériquement proches du fait de la pression ([36]). De plus, il a été montré que la pression inactivait des enzymes essentielles au bon fonctionnement de la cellule et en particulier, celles nécessaires à la réplication et à la transcription de l'ADN.

L'ARN (Acide ribonucléique) est également résistant à la pression. Néanmoins, ISAACS *et al.* ([64]) ont montré que sous pression les ribosomes se dissocient et ne peuvent donc plus se fixer à l'ARNm, ce qui perturbe fortement la translocation des protéines ([44]). Ceci engendre alors une inhibition de la synthèse protéique ([157]), voire un arrêt de la croissance cellulaire. Il est admis que l'ensemble de ces effets du traitement par hautes pressions hydrostatiques sur le matériel génétique peut être à l'origine ou participe à l'inactivation des microorganismes par la pression.

En conclusion, l'inactivation par les hautes pressions semblent être multi cibles. La membrane cellulaire est la principale cible du procédé, mais dans certains cas, l'addition de dommages tels qu'une perte de solutés pendant le traitement, une coagulation des protéines, une inactivation d'enzymes clés à la survie cellulaire et des modifications dans la conformation des ribosomes conduisent également à la mort de la cellule.

INACTIVATION DES MICROORGANISMES PAR LES HAUTES PRESSIONS

Depuis les premiers travaux de HITE (1889), beaucoup d'études ont été menées sur l'utilisation des hautes pressions comme procédé de préservation des denrées alimentaires. Ces études ont eu pour but d'étudier l'influence du procédé sur l'inactivation de microorganismes pathogènes ou d'altération très spécifiques, et sur la microflore endogène des aliments. Elles ont été réalisées soit dans les aliments directement, soit dans des milieux modèles. Les résultats de ces études ont montré que les hautes pressions étaient capables de détruire la plupart des microorganismes. Ainsi, les hautes pressions améliorent la qualité sanitaire des aliments et leur durée de vie d'un point de vue microbiologique ([112]). La réponse des microorganismes au traitement par hautes pressions hydrostatiques dépend principalement du type de microorganisme traité, des paramètres du traitement et de milieu dans lequel il se trouve.

Action sur les bactéries végétatives

Des niveaux de pression très modérés diminuent le taux de croissance et la reproduction des bactéries végétatives, tandis que des niveaux de pression très élevés conduisent à une inactivation, le seuil dépendant du microorganisme ([113]). Pour des pressions allant de 100 à 800 MPa et pour une température et un temps de traitement donnés, l'immense majorité des travaux scientifiques depuis pratiquement 20 ans ont montré que les hautes pressions inactivent totalement ou partiellement les bactéries végétatives ([141]).

Cinétique d'inactivation

L'inactivation par les hautes pressions est complexe et la cinétique d'inactivation ne suit pas un modèle de premier ordre. En effet, il est généralement observé une diminution log-linéaire du nombre de microorganismes, suivie d'un phénomène de traînée. Ce phénomène de traînée est dû, à la fois, à un traitement non homogène à l'échelle de la population et l'existence de sous-populations de cellules plus résistantes à la pression ([141]).

Le niveau de pression appliqué est un facteur déterminant dans l'inactivation des microorganismes, l'inactivation augmentant avec la pression. Pour illustration, FONBERG-BROCZEK *et al* ([47]) ont fait paraître une étude sur l'influence des hautes pressions sur *Listeria monocytogenes*. Les auteurs ont montré que le nombre de *L. monocytogenes* diminue proportionnellement avec l'augmentation de la pression. En effet, pour une durée de traitement de 10 minutes, un traitement de 100 MPa diminue de 2 log la charge microbienne alors qu'un traitement de même durée, mais à 400 MPa, la diminue de 7 log. Une foultitude d'autres exemples aurait pu illustrer ce lien entre les augmentations de pression et d'efficacité du traitement. Nonobstant, d'autres facteurs d'efficacité interviennent comme le type de microorganisme.

Influence du type de microorganisme traité

Il existe une très grande variabilité de comportement entre les bactéries végétatives vis-à-vis de la pression. Par exemple, des réductions, pour un même traitement, allant de 0,5 à 8,5 log ont été rapportées parmi *Listeria monocytogenes*, *Staphy-*

lococcus aureus, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*. Il a également été décrit des différences de barosensibilité à l'intérieur d'un même genre ou entre des souches d'une même espèce bactérienne ([12, 19]).

Nonobstant, plusieurs études font état d'une plus grande sensibilité à la pression des bactéries à coloration de Gram négative comparativement aux bactéries à coloration de Gram positive ([110]; [24]; [34]) (Tableau II). A titre d'exemple, il a été montré que des pathogènes tels que *Vibrio* et *Yersinia* (Gram négatif) sont relativement plus sensibles à la pression et peuvent être inactivés totalement pour des pressions de 300 MPa, tandis que *Staphylococcus aureus* (Gram positif) nécessite des pressions supérieures à 500 MPa ([34]). De même, CARLEZ *et al* ([23]) ont étudié l'inactivation de *Pseudomonas fluorescens* (Gram négatif) et *Listeria innocua* (Gram positif) inoculés dans de la viande de bœuf. A 20°C, 6 réductions décimales de *P. fluorescens* sont obtenues pour seulement 200 MPa, alors qu'il est nécessaire d'appliquer 400 MPa pour obtenir la même réduction chez *L. innocua*.

Cette différence de sensibilité pourrait être associée aux différences de structure de l'enveloppe. En effet, l'enveloppe de la cellule Gram négatif est plus complexe et serait donc plus sensible aux changements de pression ([112]). De plus, le peptidoglycane, plus abondant chez les bactéries à Gram positif, déterminerait une part de la barorésistance pouvant expliquer la différence de comportement à la pression.

Cependant, il existe quelques exceptions à cette règle, montrant que des études au cas par cas sont souvent nécessaires. Ainsi, WUYTACK *et al* ([155]) ont comparé l'inactivation de cinq souches de bactéries Gram négatif et de cinq souches de bactéries Gram positif traitées entre 200 et 400 MPa à 25°C pendant 15 minutes. Ils ont montré que pour les mêmes conditions de traitement, les résultats des deux groupes se chevauchent partiellement. Plus récemment, PERRIER-CORNET *et al* ([113]) indiquaient que *Lactobacillus plantarum* (Gram positif) était inactivé totalement à 300 MPa alors que pour atteindre le même résultat 500 MPa était nécessaire pour *E. coli* (Gram négatif). Il a également été montré que la forme de la bactérie jouait un rôle dans la résistance à la pression. En effet, les bactéries de forme allongée (type bacille) seraient plus sensibles que les bactéries de forme ronde (type coque) ([141]; [134]).

D'autres facteurs sont bien connus pour exercer une influence sur le comportement des bactéries à la pression : la phase de croissance et la température de croissance. Les cellules en phase stationnaire de croissance sont généralement plus résistantes que celles en phase exponentielle de croissance ([60], [83], [105]). PAGAN et MACKEY [105] ont comparé l'inactivation par un traitement hautes pressions d'une souche d'*E. coli* en phase exponentielle de croissance ou en phase stationnaire. Ils ont mis en évidence un gain d'efficacité du traitement de plus de 6 réductions décimales pour les cellules en phase exponentielle ([105]). CASADEI *et al* ([24]) ont montré que la résistance à la pression de cellules en phase exponentielle de croissance d'*E. coli* NCTC 8164 augmente lorsque la température d'incubation diminue. Des résultats similaires ont été décrits chez *Lactobacillus plantarum* ; les cellules en phase exponentielle obtenues à 10°C sont plus résistantes que celles qui croissent à 30°C ([140]). Les auteurs ont montré que les

	Micro-organisme	Milieu	Traitement	Réduction (log)	Références
Bactéries végétatives	<i>Campylobacter jejuni</i>	Morceaux de porc	300 Mpa, 10 min, 35°C	6	[143]
		Viande de poulet	200MPa, 10min, 25°C	2	[93]
	<i>Salmonella enteritidis</i>	Bouillon	345 Mpa, 10 min, 35°C	8,22	[4]
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Emincés de poulet	400MPa, 2min, 20°C	3,3	[45]
	<i>Salmonella enterica</i>	Saucisses fermentées	400MPa, 10min, 17°C	6	[69]
	<i>Escherichia coli O157:H7</i>	Viande de volaille	600 Mpa, 15 min, 20°C	3	[120]
		Poulet	400MPa, 50°C	6	[119]
		Lait	400MPa, 50°C	5	[119]
		Bouillon	345 Mpa, 10 min, 35°C	8,14	[4]
	<i>Escherichia coli</i>	Porc Marengo	400MPa, 30min, 20°C	3,35	[102]
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Viande de volaille	600 Mpa, 15 min, 20°C	3	[120]
		Morceaux de porc	600MPa, 10 min, 20°C	6	[143]
		Porc Marengo	400MPa, 30min, 20°C	1,79	[102]
		Bouillon	345 Mpa, 10 min, 35°C	4	[4]
	<i>Listeria monocytogenes</i>	Viande de volaille	600 Mpa, 15 min, 20°C	2	[120]
		Jambon cuit	600MPa, 5min, 10°C	3,5	[70]
		Bouillon	345 Mpa, 10 min, 35°C	5	[4]
	<i>Listeria innocua</i>	Viande de bœuf	400 Mpa, 20°C	6	[23]
<i>Pseudomonas</i>	Viande de bœuf	200 Mpa, 20°C	6	[23]	
	Boudins	300MPa, 10min, 15°C	2,5	[42]	
	Porc Marengo	400MPa, 30min, 20°C	6,49	[102]	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Lait entier	300MPa, 10min, 21,5°C	7,5	[32]	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Lait entier	400MPa, 10min, 21,5°C	7	[32]	
Spores végétatives	<i>Clostridium botulinum</i>	Tampon phosphate	827MPa, 30min, 75°C	6	[129]
		Tampon phosphate	827MPa, 5min, 50°C	5	[127]
		Purée de carottes	600MPa, 60min, 80°C	5,5	[92]
	<i>Clostridium sporogenes</i>	Tampon	400MPa, 30min, 60°C	2	[101]
		Poulet	680MPa, 20min, 80°C	2	[40]
	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	Porc	400MPa, 30min, 80°C	4	[103]
		Bouillon	600MPa, 60min, 70°C	4	[61]
	<i>Bacillus cereus</i>	Lait	600MPa, 12min, 70°C	6	[72]
	<i>Bacillus subtilis</i>	Tampon phosphate	700MPa, 5min, 70°C	5	[57]
		Eau distillée	200MPa, 60min, 75°C	3	[164]
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Purée de carottes	900MPa, 4min, 100°C	3,5	[91]

TABLEAU II : Effet des hautes pressions hydrostatiques sur les bactéries végétatives et sur les spores bactériennes.

bactéries cultivées à basse température contenaient une plus forte teneur en acides gras insaturés rendant ainsi les membranes plus fluides et donc plus résistantes à la pression.

Action sur les spores bactériennes

Les spores bactériennes sont la forme résistante de certaines bactéries à Gram positif. Il est connu que les spores sont très résistantes à de nombreux stress tels que la chaleur, la dessiccation ou des stress chimiques. Les spores bactériennes présentent également une grande résistance à la pression (Tableau II). En effet, l'inactivation directe des spores nécessite l'application de très hautes pressions, souvent supérieures à 1000 MPa ([29] ; [141]). Pour illustration, il est nécessaire d'appliquer un traitement de 827 MPa pendant 30 minutes à 75°C

pour obtenir une réduction des spores de *Clostridium botulinum* ([120]).

Cette résistance exceptionnelle est due principalement à la structure des spores (figure 3).

En effet, celles-ci ont une structure particulière constituée d'un certain nombre de couches ([15]). Il a été montré que le cortex, responsable du maintien de la faible teneur en eau dans le core de la spore, était la principale cause de la résistance des spores à la pression ([15]). De plus, la paroi sporale, contenant un certain nombre de protéines et de l'acide dipicolinique, protège la spore des agents extérieurs, de la solvatation et des réactions d'ionisation excessives ([44] ; [146]). Cette résistance est toutefois très variable, tout comme pour les bactéries sous forme végétative, elle dépend de l'espèce et de la souche. Pour exemple, MARGOSCH *et al* ([85]) ont montré que la souche

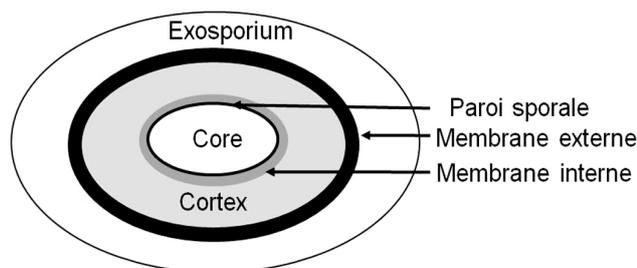


FIGURE 3 : Structure générale d'une spore bactérienne d'après [15].

Clostridium botulinum TMW 2.357 était plus résistante que les autres souches de *C.botulinum* et que les souches de *Bacillus* spp. Il avait également été montré précédemment que *Clostridium* était plus résistante à la pression que *Bacillus* ([109]). De plus, les souches protéolytiques semblent plus résistantes que les souches non protéolytiques ([85]; [119]).

Par contre, de manière inattendue, les spores bactériennes peuvent réagir différemment à des niveaux de pression relativement faibles (50-300 MPa). En effet, une pression modérée entraîne une germination des spores. Plusieurs auteurs ont ainsi montré que l'inactivation des spores par hautes pressions pouvait se faire en deux étapes : la première à basse ou faible pression (50 à 300 MPa) ayant pour but d'induire la germination et la seconde à plus haute pression (>400 MPa) afin d'inactiver la forme végétative issue de la germination ([38]; [79]). L'un des premiers événements dans la germination des spores est la libération de l'acide dipicolinique, qui n'est pas présent chez les formes végétatives. Pour exemple, *Bacillus subtilis* en solution saline perd 80% de son acide dipicolinique après un traitement à 60 MPa à 30°C ([79]). Quelques années plus tard, d'autres auteurs ont montré que le processus de germination engendré par des pressions modérées était dû au fait que ces pressions activaient les récepteurs de nutriments présents à la surface de la membrane interne de la spore [155]. Cependant, le mécanisme de stimulation mis en jeu reste encore mal connu. Il est probable que la pression agisse directement sur les récepteurs entraînant des modifications structurales, ou sur la membrane interne dans laquelle résident ces récepteurs. Suite à cette stimulation par la pression, le processus de ger-

mination suit la même voie que celle induite en présence de nutriments ([15]; [106]).

Plusieurs études ont été publiées sur l'utilisation combinée des hautes pressions et de la chaleur pour inactiver les spores bactériennes. La majorité de ces études ont été menées sur *Clostridium* spp et *Bacillus* spp dans divers milieux de suspension ou dans les aliments ([5]; [93]; [66]; [120]; [154], [94]). Les résultats indiquent que les spores sont inactivées par des pressions allant de 500 à 800 MPa et des températures allant de 60 à 80°C. En fait, les spores de *Clostridium sporogenes* en suspension sont inactivées pour un traitement de 400 MPa, à 60°C pendant 30 minutes ([93]). Les spores de *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens* et *B. licheniformis* sont inactivées pour des traitements compris entre 600 et 800 MPa à 80°C pendant une durée de 16 minutes dans de la purée de carottes ([85]).

Les effets d'un traitement hautes pressions continu ou cyclique sur les spores de *Bacillus stearotherophilus* ont également été étudiés ([57]). Les résultats obtenus lors d'un traitement continu sous 600 MPa, à 70°C pendant 60 minutes sont identiques à ceux observés lors d'un traitement à 400 MPa à 70°C pendant 6 cycles de 5 minutes ; le nombre de spores est réduit de 10⁶ à 10²/mL. Différentes combinaisons de température, pression, durée et cycles de traitement peuvent alors être utilisées pour réduire le nombre de spores et parfois aboutir à une inactivation complète ([43] ; [147]).

L'efficacité du traitement hautes pressions peut aussi être améliorée par d'autres facteurs tels que la présence de nisine dans le milieu ou en augmentant l'acidité du milieu ([143]; [154]).

Actions sur les levures et moisissures

En règle générale, plus un organisme est complexe plus sa sensibilité aux hautes pressions est importante. De fait, il est connu que les levures et moisissures sont plus sensibles à la pression que les bactéries ([63]). Des traitements compris entre 200 et 400 MPa suffisent généralement à les inactiver ([29]; [141]) (Tableau III). Cependant, des levures comme *Saccharomyces cerevisiae* sembleraient être plus résistantes que les bactéries Gram négatif ([134]). De plus, d'après Kimura ([71]), certaines levures font preuve d'une barorésistance exception-

	Micro-organisme	Milieu	Traitement	Réduction (log)	Références
Levures, moisissures	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Porc	400MPa, 10min, 25°C	7	[134]
		Jus d'orange	400MPa, 60min, 20°C	3	[9]
	<i>Rhodotorula rubra</i>	Solution saccharose	500MP, 15min, 25°C	7	[104]
	<i>Candida utilis</i>	Porc	400MPa, 10min, 25°C	6	[134]
	<i>Byssochlamys fulva</i>	Tampon	700MPa, 15min, 70°C	2,5	[26]
	<i>Byssochlamys nivea</i>	Tampon	700MPa, 15min, 70°C	2,5	[26]
Virus	Bactériophage T4	Tampon tris-phage	400MPa, 15min, 4°C	8	[54]
	Hépatite A	Milieu de culture tissulaire	450MPa, 5min, 21°C	6	[72]
	VIH	Milieu de culture	550MPa, 10min, 25°C	4	[103]
	Poliovirus	Milieu de culture tissulaire	450MPa, 5min, 21°C	Pas de réduction	[72]

TABLEAU III : Effet des hautes pressions hydrostatiques sur les levures, moisissures et virus.

nelle. En effet, *Candida parapsilosis* n'est pas totalement inactivée après un traitement de 400 MPa à température ambiante lorsqu'elle est introduite dans de la confiture de fraise. Quelques années plus tard, BASAK *et al* ([9]) ont montré que *S. cerevisiae* n'était pas non plus totalement inactivée pour des pressions de 400 MPa dans le jus d'orange. Le milieu de pressurisation joue un rôle sur la barosensibilité des levures et des moisissures. En effet, il a été montré que la résistance de ces microorganismes augmentait quand la concentration en sucre dans le milieu augmentait également ([104]; [53]). Ceci peut alors poser problème lors du traitement des préparations à base de fruits contenant une forte concentration en sucres.

Peu de publications traitent, *sensu stricto*, du comportement des spores de levures et de moisissures. Certains auteurs indiquent que celles-ci sont facilement inactivées par la pression à l'image de *Aspergillus oryzae* (à 300 MPa) ou *Rhizopus javanicus* (à 400 MPa) ([29]). Pour d'autres auteurs, la réponse est plus nuancée démontrant par exemple que les ascospores de moisissures telles que *Byssoschlamys*, *Neosartorya* et *Talatomycetes* sont très résistantes aux traitements hautes pressions : 700 MPa pendant 15 minutes à 70°C ne sont pas suffisants pour réduire le nombre d'ascospores ([141]; [26]).

Beaucoup moins bien connu, le mécanisme d'inactivation des levures pourrait être semblable à celui des bactéries ; les hautes pressions affectent la perméabilité membranaire et les structures cellulaires ([14], [86]). Des modifications morphologiques ont également été observées chez *S. cerevisiae* avec la présence de rides et de cicatrices à la surface de la cellule ainsi que des changements dans la forme de celle-ci ([53]; [86]). Une réduction du volume a également été reportée dans les levures traitées à 250 MPa pendant 15 minutes ([114]).

Action sur les virus, les parasites et les prions

La littérature compte peu de travaux, à l'heure actuelle, concernant l'effet de la pression sur les virus. Il a été montré que la résistance des virus à la pression varie considérablement et dépend en grande partie de leur structure ([141]) (Tableau III). GROSS et LUDWIG ([54]) ont étudié l'effet de la pression sur le bactériophage T4. Les résultats ont montré qu'un traitement de 400 MPa à 30°C pendant 25 heures n'inactivait pas totalement le virus alors qu'un traitement à 400 MPa mais à 4°C, le bactériophage était totalement inactivé en 15 minutes. Une étude sur le virus de l'hépatite A a montré une réduction de 7 log du pouvoir infectieux de ce virus avec un traitement de 450 MPa pendant 5 minutes à 21°C ([72]). Ces mêmes auteurs ont également montré que le calicivirus félin (un norovirus) était inactivé à 275 MPa pendant 5 minutes. Au contraire, les poliovirus sont très résistants aux hautes pressions. En effet, aucune réduction significative du pouvoir infectieux n'a été reportée après un traitement de 600 MPa à 20°C pendant 60 minutes ([100]). La raison de cette résistance à la pression n'est pas totalement élucidée tout comme le mode d'inactivation. Il semblerait que les hautes pressions dénaturent les capsides virales. Cette dissociation peut être entièrement réversible ou irréversible, dépendant du virus et des conditions de traitement, obligeant à des travaux au cas par cas.

D'autres études se sont intéressées à l'effet de la pression sur les virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ([103]).

Ces auteurs ont montré que la reverse transcriptase d'une souche de VIH était inactivée pour des pressions de 300 MPa et que l'enveloppe de ce même virus était rompue pour des pressions de 500 MPa.

Il existe peu d'information sur l'effet des hautes pressions sur les parasites. Des parasites tels que *Cryptosporidium parvum* ([138]) ou *Toxoplasma gondii* peuvent être inactivés pour des pressions comprises entre 340 et 550 MPa pendant une courte durée de traitement. Une étude sur *Trichuris vulpis* a montré qu'il fallait appliquer des pressions supérieures à 400 MPa pour inactiver ce parasite ([131]). Des études sur des nématodes tels que *Ascaris suum* ([130]) ou *Anisakis simplex* ont montré que de faibles pressions (300 MPa) sont suffisantes pour inactiver ces parasites ([97]; [42]).

Il convient de noter que plusieurs travaux ont été consacrés aux effets des hautes pressions sur les protéines prions ([17]; [51]). Toutefois, les résultats et les modèles d'étude utilisés ne permettent pas encore d'émettre des hypothèses solides en la matière ([127]).

Les hautes pressions permettent donc d'inactiver les microorganismes avec toutefois une exception pour les spores bactériennes représentant un défi pour les procédés de conservation tels que les hautes pressions. Cependant, cette inactivation est modulée par les paramètres de traitement et les conditions du milieu dans lequel se trouve le microorganisme.

FACTEURS DE VARIATION DES EFFETS DES TRAITEMENTS HAUTES PRESSIONS SUR LES MICROORGANISMES

Paramètres du traitement

Niveau de pression, cinétique de pressurisation, durée de pressurisation

Il a été vu précédemment (3.1.a) que l'inactivation microbienne augmente avec le niveau de pression. En effet, pour une température donnée et pour des pressions supérieures à 200 MPa, une inactivation significative des microorganismes peut être observée. Le niveau de pression appliqué est donc un facteur déterminant dans l'inactivation des microorganismes ([124]).

La vitesse de montée et de descente de la pression est également un paramètre important du traitement. SMELT ([141]) avait supposé qu'une rapide décompression pouvait contribuer à une meilleure inactivation des cellules végétatives alors qu'une faible décompression engendrait une réponse au stress « pression » rendant ainsi le traitement moins efficace. L'effet de cette vitesse a été étudié sur *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* ([25]), *Listeria innocua* ([116]), *E.coli* ([101]) et sur des spores bactériennes ([144]), les résultats sont souvent contradictoires. En effet, CHAPLEAU *et al* ([25]) ont montré que des faibles taux de compression (1MPa.s⁻¹) et de décompression (5MPa.s⁻¹) augmentaient l'inactivation. A contrario, NOMA *et al* ([101]) ont montré qu'une compression rapide (quelques secondes) et une décompression rapide (instantanée) engendrait une meilleure inactivation des cellules. SYED *et al* ([144]) ont observé pour des spores de *Bacillus subtilis* qu'une compression lente suivie d'une décompression

lente avaient un impact important sur l'inactivation et que pour une compression et décompression rapide, la population de cellules blessées sublétalement était plus importante.

La durée de pressurisation est également un facteur important dans l'inactivation cellulaire ; il est admis que l'efficacité du traitement augmente quand la durée augmente.

Pour des traitements inférieurs à 30 minutes, le nombre de microorganismes diminue fortement au début du traitement puis cette diminution ralentit à la fin du traitement.

Cependant, il a été observé, chez la majorité des microorganismes, que pour un niveau de pression élevé et pour un temps de traitement très long, l'inactivation totale de la charge microbienne initiale peut ne pas être atteinte. Il apparaît alors que l'inactivation microbienne par la pression ne suit pas un modèle de premier ordre. Il existe un phénomène de traînée ou « tailing » qui s'expliquerait par la présence d'une petite fraction résistante ou protégée ([45]). Pour illustration, une étude sur l'inactivation de *E.coli*, traité à 250 MPa à 25°C, a montré que la charge microbienne diminue fortement (5log) en 20 minutes, et seulement d'une réduction supplémentaire quand le traitement est prolongé d'une heure ([79]).

Un traitement de longue durée ne permet donc pas un gain de réduction important de la charge microbienne initiale, à l'heure du choix d'un barème industriel il convient d'en tenir compte.

Influence de la température de traitement

La température lors du traitement peut jouer un rôle significatif sur la survie des microorganismes. En effet, pour chaque microorganisme, il existe une valeur de température pour laquelle la résistance à la pression est maximale ([124]). Cette température se situe généralement aux alentours de 20°C-25°C. Plus la température s'éloigne de cette valeur, moins le microorganisme tolère la pression. C'est la raison pour laquelle le traitement par hautes pressions sur des denrées alimentaires est généralement effectué soit à basse température (eau refroidie), soit à des températures modérées (50-60°C) pour améliorer la destruction des microorganismes. Pour exemple, ALPAS *et al.* ([4]) ont montré, pour plusieurs souches de *Staphylococcus aureus* et de *Listeria monocytogenes*, qu'une augmentation de la température de pressurisation de 25 à 50°C avait un effet significatif sur la perte de viabilité de ces souches pour un traitement de 375 MPa. De même, PATTERSON et KILPATRICK ([111]) avaient reporté antérieurement une inactivation de 6 log pour la souche *E.coli* O157:H7 inoculée dans du poulet, et une inactivation de 5 log pour la même souche inoculée dans du lait pour un traitement à 400 MPa à 50°C. Des études plus récentes ont montré qu'une combinaison températures modérées (50 – 60°C) / hautes pressions amélioreraient significativement l'inactivation bactérienne ([90]; [34]; [95]; [156]) et l'inactivation des spores ([66]; [50]). L'utilisation de traitements combinés températures modérées (50 – 60°C) / hautes pressions) semble donc être un moyen efficace pour la destruction des flores pathogènes et d'altération des produits alimentaires.

Des températures basses améliorent également l'inactivation bactérienne. En effet, une étude réalisée par CARLEZ *et al* ([23]), portant sur l'influence de la température pendant un

traitement hautes pressions de la viande de bœuf inoculée par plusieurs bactéries pathogènes, a montré qu'une température de 20°C engendrait une résistance plus importante qu'une basse température (10°C). Une des explications à ces phénomènes est que la chaleur favorise la dénaturation des protéines et donc par conséquent perturbent les fonctions enzymatiques, et que le froid tend à rigidifier les membranes, les rendant alors plus sensibles à la pression ([45]).

Milieu de traitement

Activité de l'eau

Très grossièrement, l'activité de l'eau (a_w) indique la disponibilité de l'eau d'un milieu. C'est un facteur de variation connu de l'efficacité de traitements physiques de préservation des aliments, parmi lesquels les hautes pressions hydrostatiques. Plusieurs études ont montré qu'une faible activité de l'eau entraînait une diminution de l'inactivation bactérienne par les hautes pressions ([104], [14], [61]). En effet, OXEN et KNORR ont montré que l'effet baroprotecteur commençait pour une a_w inférieure à 0,92. De même, RASO *et al.* ([117]) n'ont observé aucune inactivation bactérienne de *Bacillus cereus* pour une $a_w=0,92$ à 690 MPa. HAYMAN *et al.* ([61]) ont étudié l'influence de l'activité de l'eau sur la résistance de *Listeria monocytogenes* traitée à 600 MPa (5min à 20°C). Les résultats ont montré que quand l' a_w est diminuée à 0,83, l'inactivation bactérienne était significativement diminuée. L'augmentation nette de la barotolérance de *Listeria* à $a_w=0,83$ pourrait être due à la stabilité protéique ; en effet, il est supposé qu'à cette a_w , les protéines sont rigides et, donc, non dénaturées par les Hautes Pressions. Pareillement, MOUSSA *et al.* ([98]) ont étudié l'inactivation d'*Escherichia coli* par les hautes pressions et ont également observé qu'une a_w réduite ($a_w=0,85$) augmentait la résistance d'*E.coli* à la pression. Cet effet baroprotecteur d'une faible activité de l'eau a été aussi bien observé dans des milieux synthétiques que dans des aliments ([112]).

Néanmoins, des études ont montré que la résistance à la pression associée à une faible activité de l'eau dépendait surtout de la présence de solutés ioniques ou non ioniques dans le milieu. En effet, la nature du soluté utilisé, pour réduire l'activité de l'eau du milieu, exercerait une influence plus importante sur l'inactivation bactérienne que la valeur de l'activité de l'eau elle-même. Ceci sous-entend que la composition du milieu de traitement peut également affecter le comportement des microorganismes traités par hautes pressions de façon significative ([45]). Par exemple, plusieurs travaux ont montré qu'une forte concentration en saccharose (soluté non ionique) et en chlorure de sodium (soluté ionique) protégeaient *Lactococcus lactis*, *E.coli* et *Listeria monocytogenes* traités à des pressions de 500-600 MPa (15min, 20°C) ([96] ; [150]; [75]). L'augmentation de la concentration en solutés du milieu de traitement, qui entraîne une diminution de l'activité de l'eau, protège donc les microorganismes des effets des hautes pressions et ceci pour les milieux synthétiques comme pour les aliments.

Composition du milieu

La composition chimique du milieu pendant le traitement hautes pressions peut avoir un effet important sur la réponse

des microorganismes à la pression. Le sucre et le sel semblent avoir un effet protecteur considérable vis-à-vis des microorganismes traités par hautes pressions ([29]) mais cet effet protecteur dépend de la concentration dans le milieu. HAUBEN *et al.* ([56]) ont montré un effet protecteur de cations tels que le calcium et le magnésium sur *E.coli* traitée à 270 MPa (15min, 20°C) ; le calcium stabiliserait les membranes et le magnésium stabiliserait les ribosomes.

Cependant, les résultats de l'inactivation par la pression obtenus en milieu synthétique ne peuvent être extrapolés aux milieux alimentaires. En effet, l'aliment est un milieu très complexe et riche en nutriments conférant ainsi une plus grande protection aux microorganismes. Par exemple ; PATTERSON *et al.* ([110]) ont montré qu'un traitement de 375 MPa (30min, 20°C) réduisait *E.coli* de 6 log quand la bactérie se trouvait en milieu tampon phosphate (pH 7) alors que le même traitement ne réduit que de 2,5 log dans la viande de volaille et de 1,75 log dans le lait. L'aliment contient un grand nombre de glucides, lipides, protéines et autres constituants qui confèrent une protection aux microorganismes traités par hautes pressions ([137]).

De plus, certains aliments paraissent plus protecteurs que d'autres. En effet, plus un milieu est riche en nutriments, plus il va être capable de fournir des vitamines essentielles et des acides aminés aux cellules stressées ([14]). Ainsi, CLAEYS *et al.* ([37]) ont montré que le lait UHT avait un effet protecteur plus important que le lait cru. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que le lait cru contient encore des composés antimicrobiens qui agissent en synergie avec les hautes pressions.

pH

Le pH du milieu peut jouer un rôle significatif sur la survie des microorganismes. En effet, pour chaque type de microorganisme, il existe une valeur de pH pour laquelle, à une pression donnée, la survie de celui-ci est maximale. Cette résistance optimale dépend du genre, de l'espèce, voire même de la souche. Il est admis que l'inactivation des bactéries par hautes pressions augmente quand le pH du milieu de traitement s'éloigne de la valeur optimale. De plus, il a été montré que la valeur du pH diminuait sous pression ([59]).

Plusieurs auteurs ont montré qu'un milieu acide augmentait la sensibilité des bactéries à la pression ([4]; [78]). En effet, ALPAS *et al.* ([4]) ont constaté que l'inactivation microbienne augmentait quand le pH diminuait : ils ont étudié *Staphylococcus aureus* 485, qui est une souche qualifiée comme baro-résistante, et ont observé que la réduction augmentait avec l'ajout d'acides citrique et lactique. De même, une augmentation de l'inactivation des levures, moisissures et bactéries végétatives traitées entre 300 et 400 MPa dans un milieu acide a été observée ([28]). Les travaux de PAREDES-SABJA *et al.* ([107]), ont montré que l'inactivation de plusieurs souches de *Clostridium perfringens* par des traitements de 15 min à 650 MPa à 75°C pouvait être augmentée en diminuant le pH de 6,5 à 4,75. Ces résultats soulignent l'importance du pH comme paramètre pouvant contribuer à l'optimisation de l'inactivation des spores microbiennes par la pression. Le pH acide n'améliore pas seulement l'inactivation des microorganismes pendant le traitement, il inhibe également la croissance des cellules blessées sublétalement par la pression ([141]).

RÉPONSES DES MICRO-ORGANISMES AU STRESS PRESSION

En règle générale, lorsque des microorganismes sont soumis à un stress et selon l'intensité de celui-ci, une petite fraction de ces microorganismes survit à ce stress mais présente des lésions dites sublétales. Si les conditions environnementales le permettent, ces cellules blessées activent des mécanismes cellulaires leur permettant de se réparer et de reprendre leur croissance ; ce phénomène est appelé recouvrement.

De même, des cellules soumises à un stress hyperbare activent des réponses spécifiques ou générales qui vont leur permettre de s'adapter voire de résister à la pression. Il est important de noter toutefois, qu'à ce jour, il n'a jamais été montré d'acquisition d'un phénotype résistant à la pression transmissible, par une souche bactérienne de phénotype sensible à la pression. Récemment, le développement des techniques « omiques » a conduit certaines équipes de recherche à examiner les réponses des micro-organismes aux traitements hyperbares aux niveaux génomique et protéomique, et ont tenté de comprendre les systèmes de protection cellulaires mis en œuvre suite au traitement. Il a été montré que ces réponses étaient contrôlées par des facteurs de régulation de l'expression génétique tels que des inducteurs qui vont engendrer la synthèse de nouvelles protéines ou des répresseurs qui vont freiner voire inhiber la synthèse d'autres protéines [39].

A titre d'exemple, FERNANDES *et al.* (2004) [46] ont étudié le profil d'expression génique de *Saccharomyces cerevisiae* en réponse à un traitement hautes pressions de 200 MPa pendant 30 minutes. Les résultats ont montré que l'expression de certains gènes était modifiée par la pression impliquant une réponse spécifique à celle-ci. Ainsi, la régulation de l'expression du gène *ole 1* a pour conséquence d'augmenter le nombre d'acides gras insaturés dans les lipides membranaires, ce qui a pour effet d'augmenter la fluidité membranaire de la cellule et de permettre de préserver la fonctionnalité de la membrane en compensant l'effet rigidifiant de la pression [135]. DOMITROVIC *et al.* (2006) [41] ont également étudié la réponse de *Saccharomyces cerevisiae* à la pression et ont montré que celle-ci activait la transcription d'éléments de réaction au stress par le biais de facteurs de transcription qui sont nécessaires pour résister et s'adapter à la pression. Chez *Listeria monocytogenes*, certains gènes associés aux dommages causés par les hautes pressions sont surexprimés provoquant ainsi l'induction d'une réparation [16].

Sous pression, les cellules engagent également des réponses de type « SOS » qui sont un système de survie des bactéries. La réponse SOS type, induite en réponse à des lésions importantes de l'ADN par exemple par les irradiations UV, met en jeu deux protéines : RecA et LexA. RecA se lie au niveau des brèches de l'ADN et initie les échanges de brins. Elle a également une activité protéolytique qui va permettre de cliver la protéine LexA, répresseur du système SOS. Les gènes de la réparation SOS vont alors être traduits en grande quantité. AERTSEN *et al.* (2004) ont montré qu'un traitement à 300 MPa induisait également une réponse « SOS » chez *E. coli*. Cependant, les hautes pressions ayant plutôt un effet stabilisant de l'ADN, l'induction de cette réponse SOS présente quelques différences avec la réponse SOS type. Ici, la réponse SOS induite par la pression n'est pas déclenchée par les lésions de

l'ADN puisque les mutants délétés du gène *recA* ou produisant un variant *LexA1* résistant à l'autoclivage ne produisent pas de réponse « SOS ».

D'autres travaux ont porté sur l'étude du protéome des bactéries pour évaluer leur réponse à la pression. Pour illustration, BIÈCHE *et al* (2011) [13] ont évalué la réponse protéomique de *Campylobacter jejuni* après un traitement hautes pressions et pendant son recouvrement ultérieur. Les résultats ont montré que le protéome était modifié par la pression, avec une surproduction ou une sous-production d'un certain nombre de protéines. De plus, il a été montré que parmi les protéines dont l'abondance était modifiée par la pression, certaines présentaient un profil transitoire en fonction du temps de recouvrement. Ces dernières ont ainsi été considérées comme spécifiques à la réponse au choc haute pressions et appelées protéines de choc haute pression.

D'autres réponses induites par la pression, et ayant un effet protecteur sur les bactéries soumises à la pression, ont été mises en évidence. Tout d'abord, les hautes pressions engendreraient un stress oxydant endogène chez les bactéries, notamment chez *E. coli* [3]. D'après cette étude, les souches d'*E. coli* résistent plus ou moins à la pression en fonction de leur résistance au stress oxydant, ce qui implique que la réponse au stress oxydant fait également partie de la réponse aux hautes pressions. Le traitement induirait également la synthèse de protéines de choc thermique (Heat Shock Protein) ou de protéines de choc froid (Cold Shock Protein) [7]. AERTSEN *et al* (2004) [1] ont montré, après un traitement hautes pressions chez *E. coli*, l'induction de trois promoteurs de gènes appartenant au régulon du choc thermique, suggérant ainsi un rôle des protéines de choc thermique dans la protection contre, et/ou la réparation, des dommages causés par la pression.

CINÉTIQUE D'INACTIVATION ET MODÉLISATION

Depuis de nombreuses années, beaucoup de travaux ont été conduits sur l'inactivation des microorganismes par le procédé hautes pressions. C'est seulement depuis quelques années que les cinétiques d'inactivation ont été étudiées et que des avancées remarquables ont été faites dans la modélisation de ces cinétiques. L'application de nouvelles technologies de préservation des aliments telles que les hautes pressions hydrostatiques requiert la construction de modèles mathématiques fiables qui décrivent précisément le taux d'inactivation de la population bactérienne et permettent d'anticiper le comportement de ces bactéries vis-à-vis de la technologie. Ce modèle doit permettre d'établir les conditions de traitement nécessaires pour atteindre des niveaux d'inactivation microbienne souhaités et permettre ainsi la production d'aliments stables et sains ([84]). Les modèles doivent être simples et basés sur l'inactivation de bactéries modèles en fonction des paramètres de traitement tels que le niveau de pression, la température et la durée ([142]). La modélisation se fait en deux étapes. La première étape consiste à modéliser la cinétique d'inactivation c'est-à-dire à modéliser les paramètres du modèle primaire, comme par exemple le paramètre D (temps de réduction décimale), qui est le temps nécessaire pour réduire la population de 90%. Une fois ces paramètres modélisés, l'étape suivante consiste à modéliser la variation de ces paramètres en fonction de diffé-

rents facteurs intrinsèques et extrinsèques grâce à des modèles secondaires ([18, 21]).

Il est donc indispensable de connaître le type de comportement cinétique qui décrit le mieux l'inactivation par la pression afin d'établir un modèle fiable et de quantifier cette inactivation. Les données dans la littérature sur les cinétiques d'inactivation des microorganismes par les hautes pressions ont montré que celle-ci ne suivait pas un modèle de premier ordre. En effet, depuis quelques années, beaucoup de déviations à ce modèle ont été observées tels que des phénomènes d'épaulement ou des phénomènes de traînées ([142]). Le phénomène d'épaulement peut être expliqué par le fait qu'une réparation cellulaire se produit au début du traitement puis quand cette capacité de réparation est surpassée, le nombre de microorganismes diminue exponentiellement avec le temps de traitement. Une explication souvent utilisée pour expliquer le phénomène de traînée est que la population microbienne est constituée de plusieurs sous-populations, chacune ayant sa propre cinétique d'inactivation. La courbe d'inactivation par les hautes pressions est alors le résultat de plusieurs cinétiques d'inactivation donnant lieu à une courbe non linéaire ([149]).

Pour ajuster les cinétiques non linéaires d'inactivation par les hautes pressions, plusieurs modèles primaires ont été proposés tels que le modèle Weibull, le modèle biphasique, le modèle Gompertz modifié ou encore le modèle log-logistique ([21]; [22]; [76]; [32]; [33], [139]; [151]; [115]). Il est important de rappeler que l'inactivation par les hautes pressions est différente selon le type de microorganisme et les conditions de milieu dans lequel il se trouve et que par conséquent la cinétique d'inactivation sera différente d'un microorganisme à un autre et d'un milieu à un autre et qu'elle ne sera donc pas nécessairement décrite par le même modèle ([151]). Les modèles secondaires utilisés pour l'inactivation par la pression sont généralement des équations polynomiales.

Les modèles mathématiques sont donc des outils indispensables pour prédire l'effet des traitements sur l'inactivation microbienne. Cependant, il existe des difficultés dans l'établissement de ces modèles qui incluent la capacité de recouvrement des microorganismes pendant le stockage des aliments. Ce recouvrement dépend de plusieurs paramètres tels que la composition de l'aliment, les conditions de traitements et de stockage. Il est donc indispensable de déterminer ce recouvrement pour chaque aliment. A ce jour, très peu d'études ont été menées sur la modélisation de la phase de latence qui correspond à la phase avant la reprise de croissance pendant le stockage.

PARTIE 2 : LE PROCÉDÉ ET SES EFFETS SUR LES COMPOSANTS DES ALIMENTS

Effets des Hautes Pressions Hydrostatiques sur les aliments

La gamme d'aliments se prêtant bien à ce type de traitements est large mais ne couvre cependant pas tous les aliments. Certains effets du traitement sur les constituants des aliments peuvent être en effet rédhitoires quelquefois. Par surcroît, certaines contraintes réglementaires ont pu freiner le développement de ce procédé. Il est nécessaire de faire le point sur ces deux sujets.

Effet sur les constituants des aliments

L'eau et les macromolécules organiques (protéines, lipides et glucides) sont les constituants majeurs des produits alimentaires. Il est donc indispensable de connaître l'effet des hautes pressions sur chacun de ces constituants pour comprendre l'effet de ce traitement sur des aliments.

Eau

L'eau est le constituant fondamental de la matière vivante et la plupart des produits alimentaires en contiennent une quantité importante. De plus, l'eau est généralement le fluide transmetteur de pression. C'est pourquoi il est indispensable de connaître les propriétés de l'eau sous pression pour bien comprendre les modifications biologiques liées à ce procédé.

La compressibilité de l'eau, notamment, a tendance à augmenter avec la pression mais reste toutefois relativement faible. Une diminution de 4% du volume sous 100 MPa à 20°C et de 11,5% sous 400 MPa à 20°C a pu être observée ([146]). De plus, une compression adiabatique entraîne une augmentation de la température de 2-3°C tous les 100 MPa. Cette augmentation de la température est due à l'échauffement de l'eau lors de la compression ([31]). Au contraire, la décompression entraîne une diminution de la température de la même amplitude.

Il a également été observé une augmentation du produit ionique $K_e = [OH^-] \times [H_3O^+]$ lors du traitement hautes pressions. Cette dissociation des charges positives et négatives est due en fait à un phénomène d'électrostriction de l'eau.



Lors de la pressurisation, les molécules d'eau se compactent en cercle autour d'une autre molécule d'eau et créent ainsi un champ électrique autour d'elles. Ce champ déstabilise les liens électrostatiques entre atomes de la molécule centrale jusqu'à lui enlever un proton : les molécules d'eau se dissocient. La dissociation des charges entraîne une baisse du pH de l'eau de 0,2-0,5 unités par palier de 100MPa ([29]; [59]). Cette diminution du pH étant réversible, le pH mesuré des aliments après le traitement est inchangé. Cependant, cette modification pendant le traitement peut favoriser la modulation de certaines réactions enzymatiques ou biochimiques. Durant le traitement Hautes Pressions, le nombre d'ion oxonium et hydroxyde augmente bien que la neutralité du milieu soit conservée. La variation de pH est donc insuffisante pour décrire la dissociation, contrairement au pKa. Les solutions tampons ont des modifications de pKa sous Hautes Pressions différentes de l'eau pure. L'étude d'une telle constante s'avère donc intéressante pour les milieux tampons en microbiologie notamment ([88, 89]).

L'une des conséquences importantes de l'augmentation de la pression est l'abaissement du point de fusion de la glace. En effet, l'application d'une haute pression le diminue jusqu'à un minimum de -22°C à 207,5 MPa ([68]). L'eau reste donc liquide à cette pression, car l'augmentation de volume due à la formation de glace de type I est contrecarrée par la hausse de la pression.

Protéines

Les protéines sont des macromolécules constituées d'une longue chaîne d'acides aminés liés entre eux par des liaisons

peptidiques. L'effet global de la pression sur les protéines est conditionné par son action sur les différents niveaux de structures de celles-ci. Les hautes pressions agissent sur les liaisons non covalentes, entraînant des modifications irréversibles de la structure secondaire, tertiaire et quaternaire ([87]).

- La structure primaire décrit la séquence des acides aminés, liés entre eux par une liaison peptidique. Cette liaison étant stable à la pression, la structure primaire des acides aminés se retrouve donc peu modifiée par un traitement haute pression. Quelques exceptions ont été rapportées concernant les ponts disulfure et les groupements thiols ([30]).

- La structure secondaire représente l'agencement des acides aminés en hélice α et en feuillet β à l'aide de liaisons hydrogènes. Sous l'effet de la pression, ces liaisons hydrogènes vont se rompre ou bien se renforcer. Il a été observé un déploiement irréversible des protéines pour des pressions supérieures à 300 MPa. Cependant, le comportement de la structure secondaire des protéines reste difficile à prévoir. En effet, la dénaturation dépendrait non seulement du barème de pression, mais également de la molécule et de sa taille. SCHEYHING *et al.* ([133]) ont rapporté que la protéine verte fluorescente (GFP) possédait une structure très résistante à la pression grâce à l'ensemble de ses feuillets β . Il a également été trouvé qu'à 760 MPa, le chymotrypsinogène était dénaturé par déstabilisation des hélices α et des feuillets β , alors que le lysozyme voyait ses feuillets β renforcés au-delà de 360 MPa ([87]). D'une manière générale, il semblerait que les feuillets β soient plus stables à la pression que les hélices α ([55]). De plus, l'irréversibilité du phénomène de dénaturation dépendrait du taux de compression engendré par la pression et des réarrangements de la structure secondaire des protéines ([6]).

- La structure tertiaire correspond au repliement de la séquence d'acides aminés dans l'espace (structure 3D) à l'aide de liaisons covalentes ou non. Cette structure est souvent reliée à la fonction de la protéine. Des modifications de la structure tertiaire par la pression ont été observées au-delà de 200 MPa. Il semblerait que les dépliements des protéines avec la pression aboutiraient à la formation de multiples formes dénaturées avec des états intermédiaires ([87]). La structure tertiaire des protéines peut être stabilisée par la présence de ponts disulfure, comme le montre la stabilité de l'albumine sérum bovine à 400 MPa ([92]).

- Enfin, la structure quaternaire regroupe l'association d'au moins deux chaînes polypeptidiques par des liaisons non-covalentes (souvent des liaisons de type hydrophobe). Les oligomères sont sensibles à la pression et se dissocient en leurs sous-unités pour des pressions inférieures à 150 MPa. Cette dissociation peut être suivie d'une agrégation des sous-unités provoquée par le déplissement ou bien d'une précipitation sous l'action de la pression ([87]). La dissociation des protéines oligomériques est augmentée pour des pressions supérieures (à partir de 150-200 MPa).

En résumé, de nombreuses études ont montré qu'en général des pressions inférieures à 150 MPa n'entraînaient pas de modifications des protéines ou alors des modifications réversibles. A partir de 200 MPa, à température ambiante, la hausse de pression entraînerait la dissociation des oligomères, un déplissement partiel et une dénaturation des monomères, une

agrégation protéique et enfin une gélification si la pression et la concentration en protéine sont suffisamment élevées ([30]). De telles observations ont été rapportées sur des solutions de β -lactoglobuline. Une lente renaturation des oligomères est également possible après décompression comme cela a été observé sur la tryptophane synthétase ([6]). L'ensemble des modifications reste très liée au niveau et à la durée de pressurisation, mais également au pH, à la température ou à la concentration en protéines ([31]).

Enzymes

Les enzymes sont considérées comme étant une classe particulière de protéines. Le site actif des enzymes est porté par la structure tertiaire et peut donc être affecté par une hausse de la pression. Cette action de la pression peut se faire à plusieurs niveaux : sur l'enzyme elle-même avec des changements conformationnels ou une dissociation, ou bien sur la réaction enzymatique. Les hautes pressions peuvent entraîner une activation ou une désactivation de l'activité catalytique. En général, des pressions modérées de 100-200 MPa ne désactivent pas les enzymes monomériques, tandis que des pressions supérieures conduisent à une inactivation ([74]). Cependant, il existe une grande diversité de comportements pour les protéines traitées par HP. Ainsi, la polyphénoloxylase (PPO) peut être inactivée de manière sélective. Entre 300 et 600 MPa, l'activité de cette enzyme s'avère peu affectée par la pression. À 900 MPa, seule une activité résiduelle de l'enzyme persiste. L'inactivation complète de cette enzyme demande en effet un traitement HP combiné à un chauffage. Cependant, l'origine de cette enzyme semble également influencer sur sa barosensibilité : la PPO de la pomme est inactivée à 600 MPa tandis que celle de la prune résiste à des pressions supérieures à 900 MPa ([118]). Ce type de propriété peut s'avérer utile dans la fabrication de jus de fruits.

En conclusion, l'effet des hautes pressions sur les protéines et les enzymes est très variable, surtout sur des systèmes complexes.

Lipides

Les lipides sont des molécules biologiques insolubles dans l'eau constituées d'esters d'acides gras à chaînes moyennes, longues ou très longues pouvant présenter des insaturations.

Les hautes pressions affectent deux caractéristiques des lipides : la température de fusion et l'oxydation. La pression va engendrer une augmentation de la température de fusion des lipides. Cette température caractérise le passage de la phase solide à la phase liquide et inversement. Celle-ci s'accroît de 20°C tous les 100 MPa de manière réversible ([45]). Ainsi les lipides présents, à température ambiante, dans un état liquide se solidifient sous l'effet de la pression.

D'autre part, les hautes pressions modifieraient la sensibilité des lipides à l'oxydation favorisant ainsi l'oxydation des lipides. Ceci va alors engendrer une altération des propriétés organoleptiques et nutritionnelles des aliments soumis aux hautes pressions. Le procédé augmente ainsi la teneur des aliments en composés secondaires résultant de l'oxydation des lipides après cuisson. A température ambiante, l'oxydation des lipides se produit à 200 MPa (20min) pour le bœuf, à 300 MPa (20min) pour le porc et à 600 MPa (20min) pour le poulet

([27]; [80]). Cependant, cet effet est sujet à controverse.

Glucides

Les glucides sont généralement classés en deux grandes catégories : les monosaccharides ou sucres simples à absorption rapide, qui sont des molécules simples et cycliques constituées de liaisons covalentes, tels le glucose ou le fructose, et les polysaccharides ou sucres complexes à absorption lente, qui sont des polymères d'oses reliés par des liaisons de faible énergie, tels le saccharose ou l'amidon. Les hautes pressions vont agir différemment selon la complexité des glucides. En effet, les monosaccharides constitués de liaisons covalentes ne sont pas affectés par la pression. Ceci a été confirmé par LAMBERT *et al* ([77]) qui n'ont observé aucune modification de la teneur en sucres simples dans un coulis de fraise pressurisé entre 200 et 600 MPa pendant 5 à 45 minutes et entre 5 et 45°C. Des résultats semblables ont été retrouvés par BUTZ *et al* ([20]) sur des jus d'orange, de tomate et sur des fraises, pêches et framboises.

Par contre, les liaisons de faible énergie qui relient différents oses pour former un polysaccharide vont être dissociées par la pression et par conséquent, les polysaccharides vont être affectés par la pression. Les dissociations de ces chaînes entraînent des modifications des propriétés gélifiantes et épaississantes. Une étude a montré que l'augmentation de la pression jusqu'à 300 MPa diminuait la température de fusion des carraghénanes k et augmentait celle de l'agarose entraînant ainsi une stabilisation ou une déstabilisation des gels obtenus ([52]). FUCHIGAMI *et al* ([48]) ont montré que la texture et la structure de gel d'agar étaient améliorées par hautes pressions et que par ailleurs, l'ajout de saccharose améliorerait la qualité des gels obtenus par hautes pressions. Les pectines et les alginates ont également des propriétés épaississantes et gélifiantes différentes après un traitement hautes pressions ([40]). L'amidon peut gélatiniser sous pression à température ambiante, cependant le taux de gélatinisation est variable selon son origine, la composition du milieu et dépend également des paramètres de traitement (pression, durée et température de traitement) ([11]).

Vitamines

Les vitamines sont des molécules de petites tailles dont la structure n'est formée que de liaisons covalentes. Elles sont divisées en deux catégories : les vitamines liposolubles et les vitamines hydrosolubles. Elles sont présentes dans une large gamme d'aliments d'origine végétale et animale. Un traitement hautes pressions seul n'affecte pas les vitamines car il n'agit pas sur les liaisons covalentes ([28]). Il a été montré que la pression n'affectait pas de manière significative les concentrations en vitamines B1, B6 et C ([132], [108]). Hayashi ([58]) a montré que la pressurisation des œufs n'altérait pas leurs vitamines en particulier la riboflavine (B2), l'acide folique, le rétinol (A), l'alpha-tocophérol (E) et la thiamine (B1). Les traitements hautes pressions modifient donc peu les caractéristiques nutritionnelles liées aux vitamines.

Effets par filière

Tous les produits alimentaires liquides ou solides se conservant à l'état frais, et ne présentant pas une part importante d'al-

véoles (qui risqueraient de se déformer lors de la pressurisation) sont susceptibles d'être stabilisés par les hautes pressions. Cependant les modifications des constituants alimentaires provoquées par les hautes pressions entraînent d'éventuelles variations des produits traités, présentés ici par filière.

Produits végétaux

La stabilisation par les hautes pressions se prête particulièrement aux fruits et légumes consommés crus, puisqu'elle permet d'éviter le traitement thermique. C'est pourquoi les premiers produits alimentaires traités par les hautes pressions à l'échelle industrielle ont été des jus d'agrumes et des gelées de fruits. La possibilité du recours aux hautes pressions pour ces produits dépend des enzymes présentes dans les fruits, et qui concourent à leur instabilité. Par exemple, le traitement doit être suffisamment élevé (500 MPa) pour inhiber les pectinéméthylestérases dans les jus habituellement consommés troubles ; le traitement doit être suffisamment élevé (600 MPa) pour inhiber la polyphénoloxydase dans les produits à base d'avocat, pour éviter le brunissement. Des gelées de fruits peuvent être obtenues par traitement hautes pressions sans cuisson, car certaines pectines gélifient sous pression.

La couleur des produits végétaux est stable sous hautes pressions, étant donnée la stabilité des pigments végétaux et la très faible modification de la structure et de l'état de surface des végétaux.

La demande croissante des consommateurs pour des produits à partir de fruits et de légumes peu transformés et exempts d'additifs chimiques est favorable au procédé par hautes pressions, puisque les produits obtenus ont des caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles (fibres, antioxydants) très proches de celles des produits frais.

Produits carnés

D'abondantes recherches ont été menées sur l'application des hautes pressions aux viandes et aux produits carnés, afin d'améliorer leur qualité sanitaire ou leurs caractéristiques texturales, de prolonger leur durée de conservation, ou d'améliorer la formulation de produits transformés ([136]).

Certaines études avaient pour but d'améliorer la tendreté de la viande par les hautes pressions ; cependant, les améliorations de tendreté de la viande n'ont été observées que lorsque le muscle était traité avec un traitement thermique modéré (viande de volaille), et pour la viande bovine, lorsque ce traitement était effectué en *pre-rigor*. Lorsque le muscle est traité en *post-rigor* et à température ambiante ou réfrigérée, on observe une tendance à l'augmentation de la dureté, qui perdure lors de la maturation de la viande ; ainsi, les effets positifs des hautes pressions observés sur les protéases de la maturation seraient contrebalancés par des dénaturations des protéines myofibrillaires ([67]).

Des travaux ont été menés afin de diminuer la quantité de sel et de phosphates dans des produits transformés à base de porc ou de volaille, avec l'espoir d'une action favorable des hautes pressions, qui pourraient compenser l'absence de ces ingrédients et additifs utilisés dans la viande pour assurer de bonnes qualités de cohésion, d'aptitude au tranchage et de rétention d'eau. Les résultats obtenus sont très variables selon la matrice, les taux de sel considérés, et les conditions de traite-

ment par hautes pressions, bien que globalement une amélioration des capacités de cohésion des protéines myofibrillaires ait pu être reconnue.

Les hautes pressions entraînent un changement de couleur de la viande crue, particulièrement prononcé pour la viande bovine, qui devient moins rouge et plus claire au fur et à mesure que la pression augmente, de 200 à 600 MPa. Ce changement n'est cependant plus décelable après cuisson de la viande. Ainsi le traitement par hautes pressions de la viande crue non transformée (muscle) est-il envisageable essentiellement à destination de la restauration hors foyer, ou après un marquage de type grill de la viande qui occulte la transformation de la couleur en surface. La couleur des produits carnés cuits n'est pas modifiée par les hautes pressions.

Les résultats des recherches sur l'influence des hautes pressions sur l'oxydation des lipides sont très controversés, et peu d'études se sont intéressées à d'éventuelles modifications de la flaveur des produits carnés.

Produits de la mer

Les hautes pressions permettent d'allonger la durée de conservation de filets de poisson crus jusqu'à 14 jours, avec un effet bénéfique sur la texture ([35]). La couleur de la chair de poisson est modifiée par les hautes pressions au dessus de 200 MPa, en particulier pour les poissons tels que le thon et le saumon : il n'est donc pas envisageable d'utiliser les hautes pressions pour améliorer la conservation du saumon fumé, dont l'aspect se rapproche de celui d'un saumon cuit après le traitement.

L'agrégation des protéines myofibrillaires induite par les hautes pressions a été mise à profit pour la création de gels ou de produits reconstitués ayant des propriétés de texture particulières, à partir de muscles de poisson.

Une des applications commerciales des hautes pressions est le décorticage des homards et le retrait de la coquille des coquillages tels que les palourdes : un traitement à 200 MPa permet de retirer facilement la chair des homards et des bivalves, avec un excellent rendement.

Produits laitiers

Les hautes pressions ne sont pas utilisées pour améliorer la conservation du lait cru, car le traitement modifie les micelles de caséines, et donc l'opacité du lait. De nombreuses études ont été menées pour évaluer l'effet des hautes pressions en tant que pré-traitement du lait, avant sa transformation en fromage ou en yaourts. Le pré-traitement du lait permet d'améliorer l'efficacité des étapes de saumurage ou d'affinage, de compenser une réduction du taux de matière grasse, d'améliorer la viscosité de yaourts. Les hautes pressions permettent en outre d'obtenir, à partir de protéines laitières, des gels aux caractéristiques différentes de celles des gels obtenus par traitement thermique.

Toutefois ces résultats n'ont pas été jugés suffisamment intéressants pour transposer les hautes pressions à l'échelle industrielle dans l'industrie des produits laitiers : les seuls produits actuellement existants sont des boissons à base de colostrum, et des garnitures pour sandwich à base de fromage.

Autres produits

Les hautes pressions entraînent une gélification des protéines du blanc et du jaune d'œuf, et ne permettent donc pas une stabilisation des ovoproduits liquides.

De nombreuses études ont évalué l'effet des hautes pressions sur les propriétés fonctionnelles des protéines de soja, qui sont très largement utilisées comme ingrédients dans l'industrie agroalimentaire ; les hautes pressions modifient les capacités gélifiantes et de liaison du calcium.

La digestibilité *in vitro* des protéines de soja, de viande, et de lactosérum est augmentée par un traitement par hautes pressions. Les hautes pressions peuvent, en outre, diminuer l'allergénicité de certaines protéines laitières, de pomme et de riz.

Les hautes pressions entraînent la gélatinisation de certains amidons.

Enfin, par leur action sur les transferts de matière, les hautes pressions peuvent accélérer des processus de salage ou de confisage, améliorer l'extraction de caféine, de flavonoïdes ou d'autres composés bioactifs.

ASPECTS RÉGLEMENTAIRES DU PROCÉDÉ - PRINCIPALES APPLICATIONS & LIMITES DU PROCÉDÉ

Aspects réglementaires du procédé

Il est important de noter que les hautes pressions hydrostatiques sont des traitements soumis à autorisation. De fait, l'industriel qui souhaite appliquer le procédé aux aliments dont il est responsable de la mise sur le marché doit en faire la demande auprès des autorités alimentaires. Généralement, cette demande se fait sous la forme d'un dossier scientifique et technique qui va démontrer la valeur ajoutée apportée par le traitement comparativement à un aliment non traité, ainsi que l'innocuité du procédé pour le consommateur. Les autorités alimentaires saisies de la demande vont juger de la pertinence des éléments d'information et de la démonstration fournis et donner, ou non, un avis favorable à l'utilisation du procédé. Ainsi, à titre d'exemple, la FDA (Food & Drug Administration) aux Etats-Unis ou Health Canada ont notifié des avis favorables à l'utilisation des hautes pressions dans la production de divers aliments sur la base de dossiers répondant favorablement aux principes internationaux de démonstration de la sécurité des nouveaux aliments (Internationally accepted principles for establishing the safety of novel foods). En Europe, et donc en France, c'est le règlement européen dit « Novel foods » qui fait référence (règlement CE n° 258/97). Ce dernier cite 6 catégories d'aliments et d'ingrédients dont la dernière est désignée de manière simplifiée comme suit : « les aliments et ingrédients auxquels a été appliqué un procédé de production qui n'est pas couramment utilisé ». Les hautes pressions sont donc clairement visées dans cette 6^{ème} catégorie au même titre que d'autres nouveaux procédés existants comme la lumière pulsée par exemple, ou ceux qui vont être inventés. Au niveau européen le traitement par hautes pressions hydrostatiques d'aliments emballés a été autorisé en 2001 par décision de la commission du 23 mai 2001 autorisant la mise sur le marché de préparations pasteurisées à base de fruits produits au moyen d'un traitement de pasteurisation à haute pression.

En France c'est l'ANSES qui est chargé de l'évaluation de l'innocuité des « nouveaux aliments », donnant des avis favorables à des demande d'autorisation de traitements hautes pressions de produits carnés en 2007 (avis du 14 décembre 2007 relatif à l'autorisation de mise sur le marché de magrets de canards séchés, ou séchés et fumés, stabilisés par hautes pressions hydrostatiques) et en 2010 (avis du 1^{er} mars pour des plats cuisinés et du 14 juin pour de la viande de volaille marinée et de la volaille farcie). Sur la base de l'ensemble des dossiers de demande d'autorisation et l'expérience acquise en la matière l'ANSES a rendu un avis concernant les traitements par hautes pressions hydrostatiques sur des aliments emballés (Avis ANSES du 30 août 2010) qui fait aujourd'hui autorité. En substance cet avis indique que les hautes pressions hydrostatiques n'entraînent pas de modification significative de la valeur nutritive, du métabolisme ou de la teneur en substances indésirables des aliments pour des traitements inférieurs à 600 MPa, de 3 à 5 minutes et à température d'eau de l'enceinte refroidie ou ambiante. Par surcroît, s'appuyant sur ses Comités d'Expert Spécialisés *ad hoc*, cet important avis donne, en matière d'aspects biochimiques, microbiologiques et de matériaux d'emballages à destination d'éventuels pétitionnaires, un nombre réduit d'éléments incontournables constitutifs d'un dossier de demande d'autorisation d'utilisation du procédé. Cet avis fait donc aujourd'hui figure de véritable outil d'aide à la décision.

Principales applications et limites du procédé

Dès 1990 apparaissent au Japon des confitures (framboise, kiwi et pomme) fabriquées par hautes pressions hydrostatiques et commercialisées par la société Meidi-ya ([102]). Cette confiture n'est pas cuite, car la pression seule permet de gélifier le mélange de fruit, sucre et pectine, et de stabiliser l'ensemble ([145]). Puis, Meidi-ya a commercialisé des gelées et des coulis de fruits, des yaourts et des sauces ; tous ces produits étant présentés sous la marque "High Pressure's". Toutefois, Meidi-ya n'est pas le seul fabricant de produits traités par Hautes Pressions. En effet, la société Wakayama a mis sur le marché du jus de mandarine et d'orange. De même, la société Pokka commercialise du jus de pamplemousse dont l'amertume a été supprimée ([65]). En 1993, de nouveaux produits apparaissent sur les linéaires japonais. Fujichiku Mutterham propose du jambon pressurisé et Kibun de la seiche ([145]). La société Nisshin vend une crème glacée contenant des morceaux de fruits sur sucre obtenus par Hautes Pressions. Ces fruits ne sont pas congelés lors de la conservation de la crème glacée à -20°C. Le procédé permettant une telle réalisation n'est pas totalement connu. La pression favoriserait la pénétration du sucre dans les fruits et la fuite de l'eau, ce qui protégerait les fruits de la congélation ([91]). Les produits à base de fruits (jus, coulis, confitures...) furent les premiers à se retrouver sur le marché, y compris en France où la société Ulti obtiendra en 1993 un avis favorable du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France pour le traitement de jus d'orange par Hautes Pressions Hydrostatiques. Depuis, les exemples d'applications industrielles se sont multipliés, certaines d'entre elles constituent encore aujourd'hui, du fait de leur médiatisation, des applications emblématiques : les produits carnés (jambon, tapas...) de la marque Espuña, la purée d'avocats de la société nord-

Fabricant	Produits	Barèmes	Durée de vie
Pokka (Japon)	Jus de pamplemousse (1991)	Pression inconnue, 10-15 min à 5°C	3 mois à température ambiante
Meidi-ya (Japon)	Confiture, sauces, gelées de fruits (1990)		
Ulti (France)	Jus d'agrumes (orange, citron, pamplemousse) (1996)	500 MPa, 1 min à température ambiante	18 jours à 4°C
España (Espagne)	Jambon cuit, jambon cru, tapas (1998)	400 MPa, 10 min, 8°C 600 MPa, 6 min, 8°C	30 jours pour le jambon, 45 jours pour les tapas à 3°C
Avomex (Etats-Unis)	Guacamole, Lamelles de bœuf et de poulets cuites, Plats cuisinés à base de viande (2002)	600 MPa, inf. à 10 min, ambiante	3 à 6 semaines à 3°C
Perdue (Etats-Unis)	Dés de poulets cuits, morceaux de dinde cuits	Barème inconnu	Sous atmosphère modifiée, 3°C plusieurs semaines
Motivatit (Etats-Unis)	Huîtres et sauces à base d'huîtres	200 à 350 MPa, 1 à 2 min	10 jours au froid, coquilles maintenues par une bande plastique
Cinq Degré Ouest (France)	Extraction de chair de Homard	300 MPa, 1 min, Température réfrigérée	-

TABLEAU IV : exemples de produits traités par hautes pressions.

américaine Avomex et l'ouverture des huîtres pour la société Gold Band Oyster. Le Tableau IV ci-dessus récapitule les applications les plus médiatisées.

La liste des applications potentielles n'est sûrement pas close aujourd'hui. Cependant, une certaine sélection économique et/ou technologique s'est opérée au fil des ans. Ainsi, à titre d'exemple les aliments fortement alvéolaires ne se prêtent pas bien aux traitements par hautes pressions. De même, il est à noter que la filière lait et produits laitiers est peu active sur ces traitements. Par surcroît, le coût, encore élevé, des machines et le caractère discontinu du traitement n'autorise pas toutes les applications. Au-delà des applications alimentaires, il convient de mentionner le fort potentiel d'application des hautes pressions dans le domaine des biotechnologies médicales et pharmaceutiques (pour une revue voir [127]).

Conclusion

Apparu il y a une vingtaine d'années au Japon, le traitement Hautes Pressions connaît aujourd'hui un fort développement avec plus de 160 installations industrielles et une augmentation du nombre de produits traités et commercialisés. Les hautes pressions hydrostatiques sont considérées comme un moyen de préservation alternatif aux traitements thermiques. En effet, elles permettent d'inactiver les microorganismes et de prolonger ainsi la durée de vie des aliments tout en préservant leurs qualités organoleptiques et nutritionnelles pour un grand nombre d'entre eux. Cette efficacité contre les microorganismes dépend toutefois de plusieurs facteurs : la nature du microorganisme, les paramètres de traitement et la composition du milieu. Il a été également montré que l'inactivation microbienne par les hautes pressions était multi cibles. De part les avantages

évoqués dans la revue, les hautes pressions hydrostatiques constituent une technologie à fort potentiel pour les industries agro-alimentaires y compris en Europe où la contrainte réglementaire tend à s'assouplir. Il reste néanmoins certains inconvénients qui sont, pour l'instant, le coût des investissements et la résistance des spores bactériennes à la pression représentant un défi pour un tel procédé de conservation.

Références

1. - AERTSEN A., VANOIRBEEK K., DE SPIEGELEER P., SERMON J., HAUBEN K., FAREWELL A., NYSTRÖM T., MICHIELS C.W.: Heat Shock Protein-Mediated Resistance to High Hydrostatic Pressure in *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, **70**, 2660-2666.
2. - AERTSEN A., VAN HOUTD R., VANOIRBEEK K., MICHIELS C.W.: An SOS Response Induced by High Pressure in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 2004, **186**, 6133-6141.
3. - AERTSEN A., DE SPIEGELEER P., VANOIRBEEK K., LAVILLA M., MICHIELS C.W.: Induction of Oxidative Stress by High Hydrostatic Pressure in *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, **71**, 2226-2231.
4. - ALPAS H., KALCHAYANAND N., BOZOGLU F., RAY B.: Interactions of high hydrostatic pressure, pressurization temperature and pH on death and injury of pressure-resistant and pressure-sensitive strains of foodborne pathogens. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, **60**, 33-42.
5. - ANANTA E., HEINZ V., SCHLÜTER O., KNORR D.: Kinetic studies on high-pressure inactivation of *Bacillus stearothermophilus* spores suspended in food matrices. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2001, **2**, 261-272.
6. - BALNY C., MASSON P.: Effects of high pressure on proteins. *Foods Reviews International*, 1993, **9**, 611-628.
7. - BARTLETT D.H., KATO C., HORIKOSHI K.: High pressure influences on gene and protein expression. *Res. Microbiol.*, 1995, **146**, 697-706.
8. - BARTLETT D.H.: Pressure effects on in vivo microbial processes. *Biochim. Biophys. Acta*, 2002, **1595**, 367-381.

9. - BASAK S., RAMASWAMY H.S., PIETTE J.P.G.: High pressure destruction kinetics of *Leuconostoc mesenteroides* and *Saccharomyces cerevisiae* in single strength and concentrated orange juice. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2002, **3**, 223-231.
10. - BASSET J., MACHEBOEUF M.: Etude sur les effets biologiques des ultrapressions: Résistance des bactéries, des diastases et des toxines aux pressions très élevées. *CR Hebd. Acad. Sci.*, 1932, **195**, 1431-1433.
11. - BAUER D.A., KNORR D.: The impact of pressure, temperature and treatment time on starches: pressure-induced starch gelatinisation as pressure time temperature indicator for hydrostatic pressure processing. *J. Food Eng.*, 2005, **68**, 329-334.
12. - BENITO A., VENTOURA G., CASADEI M., ROBINSON T., MACKEY B.M.: Variation in Resistance of Natural Isolates of *Escherichia coli* O157 to High Pressure, Mild Heat, and Other Stresses. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, **65**, 1564-1569.
13. - BIECHE C., DE LAMBALLERIE M., CHEVRET D., FEDERIGHI M., TRESSE O.: Dynamic proteome changes in *Campylobacter jejuni* 81-176 after high pressure shock and subsequent recovery. *J. Proteomics*, 2011, **75**, 1144-1156.
14. - BLACK E.P., HUPPERTZ T., FITZGERALD G.F., KELLY A.L.: Baroprotection of vegetative bacteria by milk constituents: A study of *Listeria innocua*. *Int. Dairy J.*, 2007, **17**, 104-110.
15. - BLACK E.P., SETLOW P., HOCKING A.D., STEWART C.M., KELLY A.L., HOOVER D.G.: Response of Spores to High-Pressure Processing. *Compr. Rev. Food Sci. Food Safety*, 2007, **6**, 103-119.
16. - BOWMAN J.P., BITTENCOURT C.R., ROSS T.: Differential gene expression of *Listeria monocytogenes* during high hydrostatic pressure processing. *Microbiology*, 2008, **154**, 462-475.
17. - BROWN P., MEYER R., CARDONE F., POCCHIARI M.: Ultra-high-pressure inactivation of prion infectivity in processed meat: a practical method to prevent human infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2003, **100**, 6093-6097.
18. - BULL M.K., HAYMAN M.M., STEWART C.M., SZABO E.A., KNABEL S.J.: Effect of prior growth temperature, type of enrichment medium, and temperature and time of storage on recovery of *Listeria monocytogenes* following high pressure processing of milk. *Int. J. Food Microbiol.*, 2005, **101**, 53-61.
19. - BULL M.K., OLIVIER S.A., VAN DIEPENBEEK R.J., KORMELINK F., CHAPMAN B.: Synergistic Inactivation of Spores of Proteolytic *Clostridium botulinum* Strains by High Pressure and Heat Is Strain and Product Dependent. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2009, **75**, 434-445.
20. - BUTZ P., FERNANDEZ GARCIA A., LINDAUER R., DIETIERICH S., BOGNAR A., TAUSCHER B.: Influence of ultra high pressure processing on fruit and vegetable products. *J. Food Eng.*, 2003, **56**, 233-236.
21. - BUZRUL S., ALPAS H., BOZOGLU F.: Use of Weibull frequency distribution model to describe the inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* by high pressure at different temperatures. *Food Res. Int.*, 2005, **38**, 151-157.
22. - BUZRUL S., ALPAS H., LARGETEAU A., DEMAZEAU G.: Modeling high pressure inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in whole milk. *Eur. Food Res. Technol.*, 2007, **227**, 443-448.
23. - CARLEZ A., ROSEC J.P., RICHARD N., CHEFTEL J.C.: High pressure inactivation of *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens* and *Listeria innocua* in inoculated minced beef muscle. *Lebensm.-Wiss. Technol.*, 1993, **26**, 357-363.
24. - CASADEI M., MANAS P., NIVEN G., NEEDS E., MACKEY B.M.: Role of Membrane Fluidity in Pressure Resistance of *Escherichia coli* NCTC 8164. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, **68**, 5965-5972.
25. - CHAPLEAU N., RITZ M., DELEPINE S., JUGIAU F., FEDERIGHI M., DE LAMBALLERIE M.: Influence of kinetic parameters of high pressure processing on bacterial inactivation in a buffer system. *Int. J. Food Microbiol.*, 2006, **106**, 324-330.
26. - CHAPMAN B., WINLEY E., FONG A.S.W., HOCKING A.D., STEWART C.M., BUCKLE K.A.: Ascospore inactivation and germination by high pressure processing is affected by ascospore age. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2007, **8**, 531-534.
27. - CHEAH P.B., LEDWARD D.A.: High Pressure Effects on Lipid Oxidation in Minced Pork. *Meat Sci.*, 1996, **43**, 123-134.
28. - CHEFTEL J.C.: Applications des hautes pressions en technologie alimentaire. *Industries Alimentaires et Agro-alimentaires*, 1991, **108**, 141-153.
29. - CHEFTEL J.C.: Review: High-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Sci. Technol. Int.*, 1995, **1**, pp.: 75-90.
30. - CHEFTEL J.C., CUGLIOLI J.: Effects of high pressure on meat: a review. *Meat Sci.*, 1997, **46**, 211-236.
31. - CHEFTEL J.C., DUMAY E.: Les hautes pressions: principes et potentialités. *In: La conservation des aliments*, Tec & Doc, 1997, pp.: 197-215.
32. - CHEN H., HOOVER D.G.: Modeling the combined effect of high hydrostatic pressure and mild heat on the inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes* Scott A in whole milk. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2003, **4**, 25-34.
33. - CHEN H., HOOVER D.G.: Use of Weibull model to describe and predict pressure inactivation of *Listeria monocytogenes* Scott A in whole milk. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2004, **5**, 269-276.
34. - CHEN H., GUAN D., HOOVER D.G.: Sensitivities of Foodborne Pathogens to Pressure Changes. *J. Food Prot.*, 2006, **69**, 130-136.
35. - CHÉRET R., CHAPLEAU N., DELBARRE-LADRAT C., VERREZ-BAGNIS V., DE LAMBALLERIE M.: Effects of high pressure on texture and microstructure of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fillets. *J. Food Sci. Technol.*, 2005, **70**, pp.: 477-483.
36. - CHILTON P., ISAACS N.S., MACKEY B.M., STENNING R.: The effects of high hydrostatic pressure on bacteria. *In: K. HEREMANS, éd.: High pressure research in the biosciences and biotechnology*, Leuven University Press, 1997, pp.: 225-228.
37. - CLAEYS W.L., ANN M.V.L.I., HENDRICKX M.E.: Review: are intrinsic TTIs for thermally processed milk applicable for high-pressure processing assessment? *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2003, **4**, 1-14.
38. - CLOUSTON J.G., WILLS P.A.: Initiation of germination and inactivation of *Bacillus pumilus* spores by hydrostatic pressure. *J. Bacteriol.*, 1969, **97**, 684-690.
39. - CONSIDINE K.M., KELLY A.L., FITZGERALD G.F., HILL C., SLEATOR R.D.: High-pressure processing – effects on microbial food safety and food quality. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2008, **281**, 1-9.
40. - DE LAMBALLERIE M.: Effets des Hautes Pressions sur les composants des aliments. *In: M. FEDERIGHI, J.L. THOLZAN, éd.: Traitements Ionisants et Hautes Pressions des Aliments*, Polytechnica, 2001, pp.: 161-170.
41. - DOMITROVIC T., FERNANDES C.M., BOY-MARCOTTE E., KURTENBACH E.: High hydrostatic pressure activates gene expression through Msn2/4 stress transcription factors which are involved in the acquired tolerance by mild pressure precondition in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett.*, 2006, **580**, 6033-6038.
42. - DONG F.M., COOK A.R., HERWIG R.P.: High Hydrostatic Pressure Treatment of Finfish To Inactivate *Anisakis simplex*. *J. Food Prot.*, 2003, **66**, 1924-1926.
43. - FARKAS D.F., HOOVER D.G.: High Pressure Processing. *J. Food Sci.*, 2000, **Suppl. 65**, 47-52.
44. - FEDERIGHI M., VIDON M., MESCLE J.F., PILET M.F.: Traitement Hautes Pressions et denrées alimentaires - Revue Bibliographique. 2^{ème} partie: effets des hautes pressions sur les microorganismes et applications aux denrées alimentaires. *Microbiologie - Aliments - Nutrition*, 1995, **13**, 225-239.
45. - FEDERIGHI M., TONELLO C., DE LAMBALLERIE M., RITZ M.: Les traitements hautes pressions des aliments. *In: M. FEDERIGHI, J.L. THOLZAN, éd.: Traitements Ionisants et Hautes Pressions des Aliments*, Polytechnica, 2001, pp.: 151-204.
46. - FERNANDES P.M., DOMITROVIC T., KAO C.M., KURTENBACH E.: Genomic expression pattern in *Saccharomyces cerevisiae* cells in response to high hydrostatic pressure. *FEBS Lett.*, 2004, **556**, 153-160.
47. - FONBERG-BROZCZEK M., WINDYGA B., SZCZAWINSKI J., SZCZAWINSKA M., PIETRZAK D., PRESTAMO G.: High pressure processing for food safety. *Acta Biochemica Polonica*, 2005, **52**, 721-724.
48. - FUCHIGAMI M., TERAMOTO A., JIBU Y.: Texture and structure of pressure-shift-frozen agar gel with high visco-elasticity. *Food Hydrocoll.*, 2006, **20**, 160-169.
49. - GANZLE M.G., VOGEL R.F.: On-line Fluorescence Determination of Pressure Mediated Outer Membrane Damage in *Escherichia coli*. *Syst. Appl. Microbiol.*, 2001, **24**, 477-485.
50. - GAO Y.-L., JU X.-R., JIANG H.-H.: Studies on inactivation of *Bacillus subtilis* spores by high hydrostatic pressure and heat using design of experiments. *J. Food Eng.*, 2006, **77**, 672-679.

51. - GARCIA A.F., HEINDL P., VOIGHT H., BUTTNER M., WEINHOLD D., BUTZ P., STARKE J., TAUSCHER B.: Reduced proteinase K resistance and infectivity of prions after pressure treatment at 60°C. *J. Gen. Virol.*, 2004, **85**, 261-264.
52. - GEKKO K.: Effects of pressure on the sol-gel transition of food macromolecules. In: C. BALNY, R. HAYASHI, K. HEREMANS, P. MASSON, édés.: Colloques INSERM: High Pressure and Biotechnology, John Libbey Eurotext Ltd., 1992, pp.: 105-113.
53. - GOH E.L.C., HOCKING A.D., STEWART C.M., BUCKLE K.A., FLEET G.H.: Baroprotective effect of increased solute concentrations on yeast and moulds during high pressure processing. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2007, **8**, 535-542.
54. - GROSS M., LUDWIG H.: Pressure-temperature-phase diagram for the stability of bacteriophage T4. In: C. BALNY, R. HAYASHI, K. HEREMANS, P. MASSON, édés.: Colloque INSERM: High Pressure Technology, John Libbey Eurotext Ltd, 1992, pp.: 57-59.
55. - GROSS M., R. J.: Proteins under pressure. *Eur. J. Biochem.*, 1994, **221**, 617-630.
56. - HAUBEN K.J.A., BERNAERTS K., MICHIELS C.W.: Protective effect of calcium on inactivation of *Escherichia coli* by high hydrostatic pressure. *J. Appl. Microbiol.*, 1998, **85**, 678-684.
57. - HAYAKAWA I., KANNO T., YOSHIYAMA K., FUJIO Y.: Oscillatory Compared with Continuous High Pressure Sterilization on *Bacillus stearothermophilus* Spores. *J. Food Sci.*, 1994, **59**, 164-167.
58. - HAYASHI R.: Applications of high pressure to food processing and preservation: Philosophy and development. In: W.E.L. SPIESS, H. SCHUBERT, édés.: Engineering and Food, Elsevier Appl. Sci., 1989, pp.: 815-826.
59. - HAYERT M., PERRIER-CORNET J.-M., GERVAIS P.: A Simple Method for Measuring the pH of Acid Solutions Under High Pressure. *J. Phys. Chem.*, 1999, **103**, 1785-1789.
60. - HAYMAN M.M., ANANTHESWARAN R.C., KNABEL S.J.: The effects of growth temperature and growth phase on the inactivation of *Listeria monocytogenes* in whole milk subject to high pressure processing. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, **115**, 220-226.
61. - HAYMAN M.M., KOUASSI G.K., ANANTHESWARAN R.C., FLORES J.D., KNABEL S.J.: Effect of water activity on inactivation of *Listeria monocytogenes* and lactate dehydrogenase during high pressure processing. *Int. J. Food Microbiol.*, 2008, **124**, 21-26.
62. - HITE B.: The effect of pressure in the preservation of milk. *Bull. West Virginia University Agr. Exp. Sta.*, 1899, **58**, 15-35.
63. - HOOVER D.G., METRICK C., PAPINEAU A.M., FARKAS D.F., KNORR D.: Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. *Food Technol.*, 1989, **43**, 99-107.
64. - ISAACS N.S., CHILTON P., MACKKEY B.M.: Studies on the inactivation of microorganisms by high pressure. In: D.A. LEDWARD, D.E. JOHNSTON, R.G. EARNSHAW, A.P.M. HASTING, édés.: High Pressure processing of foods, Nottingham University Press, 1995, pp.: 65-79.
65. - JOLIBERT F.: L'utilisation des Hautes Pressions en agro-alimentaire. In: Technologies agro-alimentaires, Dossier Scientifique de l'IFN, 1993, 21-36.
66. - JU X.-R., GAO Y.-L., YAO M.-L., QIAN Y.: Response of *Bacillus cereus* spores to high hydrostatic pressure and moderate heat. *Lebensm.-Wiss. Technol.*, 2008, **41**, 2104-2112.
67. - JUNG S., GHOUL M., DE LAMBALLERIE M.: Changes in lysosomal enzyme activities and shear values of high pressure treated meat during ageing. *Meat Sci.*, 2000, **53**, 239-246.
68. - KALICHEVSKY M.T., KNORR D., LILLFORD P.J.: Potential food applications of high pressure on ice-water transitions. *Trends Food Sci. Technol.*, 1995, **6**, 253-259.
69. - KATO M., HAYASHI R.: Effects of high pressure on lipids and biomembranes for understanding high-pressure-induced biological phenomena. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1999, **63**, 1321-1328.
70. - KATO M., HAYASHI R., TSUDA T., TANIGUCHI K.: High pressure-induced changes of biological membrane. *Eur. J. Biochem.*, 2002, **269**, 110-118.
71. - KIMURA K.: Development of a new fruit processing method by high hydrostatic pressure. In: C. BALNY, R. HAYASHI, K. HEREMANS, P. MASSON, édés.: Colloque INSERM: High pressure and biotechnology, John Libbey Eurotext Ltd, 1992, pp.: 279-283.
72. - KINGSLEY D.H., HOOVER D.G., PAPAFRAGKOU E., RICHARDS G.P.: Inactivation of Hepatitis A Virus and a Calicivirus by High Hydrostatic Pressure. *J. Food Prot.*, 2002, **65**, 1605-1609.
73. - KLOTZ B., MAÑAS P., MACKKEY B.M.: The relationship between membrane damage, release of protein and loss of viability in *Escherichia coli* exposed to high hydrostatic pressure. *Int. J. Food Microbiol.*, 2010, **137**, 214-220.
74. - KNORR D.: Novel approaches in food-processing technology: new technologies for preserving foods and modifying function. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 1999, **10**, 485-491.
75. - KOSEKI S., YAMAMOTO K.: pH and solute concentration of suspension media affect the outcome of high hydrostatic pressure treatment of *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.*, 2006, **111**, 175-179.
76. - KOSEKI S., MIZUNO Y., YAMAMOTO K.: Predictive modelling of the recovery of *Listeria monocytogenes* on sliced cooked ham after high pressure processing. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, **119**, 300-307.
77. - LAMBERTY., DEMAZEAU G., LARGETEAU A., BOUVIER J.M.: Changes in aromatic volatile composition of strawberry after high pressure treatment. *Food Chem.*, 1999, **67**, 7-16.
78. - LINTON M., MCCLEMENTS J.M.J., PATTERSON M.F.: The combined effect of high pressure and storage on the heat sensitivity of *Escherichia coli* O157:H7. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2000, **1**, 31-37.
79. - LUDWIG H., BIELER C., HALLBAUER K., SCIGALLA W.: Inactivation of microorganisms by hydrostatic pressure. In: C. BALNY, R. HAYASHI, K. HEREMANS, P. MASSON, édés.: Colloque INSERM: High pressure and biotechnology, John Libbey Eurotext Ltd, 1992, pp.: 25-32.
80. - MA H.J., LEDWARD D.A., ZAMRI A.I., FRAZIER R.A., ZHOU G.H.: Effects of high pressure/thermal treatment on lipid oxidation in beef and chicken muscle. *Food Chem.*, 2007, **104**, 1575-1579.
81. - MACKKEY B.M., FORESTIÈRE N.S.R.S., ISAACS N.S., BROOKER B.: The effect of high hydrostatic pressure on *Salmonella thompson* and *Listeria monocytogenes* examined by electron microscopy. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1994, **19**, 429-432.
82. - MALINOWSKA-PAŃ., CZYK E., KOŃ., ODZIEJSKA I., SARYCZEW M.: Changes in bacterial cells induced by high pressure at sub-zero temperature. *Syst. Appl. Microbiol.*, 2011, **34**, 139-147.
83. - MANAS P., MACKKEY B.M.: Morphological and Physiological Changes Induced by High Hydrostatic Pressure in Exponential- and Stationary-Phase Cells of *Escherichia coli*: Relationship with Cell Death. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, **70**, 1545-1154.
84. - MANAS P., PAGAN R.: Microbial inactivation by new technologies of food preservation. *J. Appl. Microbiol.*, 2005, **98**, 1387-1399.
85. - MARGOSCH D., EHRMANN M.A., GANZLE M.G., VOGEL R.F.: Comparison of Pressure and Heat Resistance of Clostridium botulinum and Other Endospores in Mashed Carrots. *J. Food Prot.*, 2004, **67**, 2530-2537.
86. - MARX G., MOODY A., BERMÚDEZ-AGUIRRE D.: A comparative study on the structure of *Saccharomyces cerevisiae* under nonthermal technologies: High hydrostatic pressure, pulsed electric fields and thermo-sonication. *Int. J. Food Microbiol.*, 2011, **151**, 327-337.
87. - MASSON P.: Pressure denaturation of proteins. In: C. BALNY, R. HAYASHI, K. HEREMANS, P. MASSON, édés.: Colloques INSERM: High Pressure and Biotechnology, John Libbey Eurotext Ltd., 1992, pp.: 89-99.
88. - MATHYS A., CHAPMAN B., BULL M., HEINZ V., KNORR D.: Flow cytometric assessment of *Bacillus* spore response to high pressure and heat. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2007, **8**, 519-527.
89. - MATHYS A., KALLMEYER R., HEINZ V., KNORR D.: Impact of dissociation equilibrium shift on bacterial spore inactivation by heat and pressure. *Food Control*, 2008, **19**, 1165-1173.
90. - MATSER A.M., KREBBERS B., VAN DEN BERG R.W., BARTELS P.V.: Advantages of high pressure sterilisation on quality of food products. *Trends Food Sci. Technol.*, 2004, **15**, 79-85.
91. - MERTENS B.: Developments in high pressure processing (part 1). *Zentralbl. Lebensm.*, 1993, **44**, 100-104.
92. - MESSENS W., VAN CAMP J., HUYGHEBAERT A.: The use of high pressure to modify the functionality of food proteins. *Trends Food Sci. Technol.*, 1997, **8**, 107-112.

93. - MILLS G., EARNSHAW R., PATTERSON M.F.: Effects of high hydrostatic pressure on *Clostridium sporogenes* spores. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1998, **26**, 227-230.
94. - MOERMAN F., MERTENS B., DEMEY L., HUYGHEBAERT A.: Reduction of *Bacillus subtilis*, *Bacillus stearothermophilus* and *Streptococcus faecalis* in meat batters by temperature-high hydrostatic pressure pasteurization. *Meat Sci.*, 2001, **59**, 115-125.
95. - MOERMAN F.: High hydrostatic pressure inactivation of vegetative microorganisms, aerobic and anaerobic spores in pork Marengo, a low acidic particulate food product. *Meat Sci.*, 2005, **69**, 225-232.
96. - MOLINA-GUTIERREZ A., RADEMACHER B., GÜNZLE M.G., VOGEL R.F., RIKIMARU H.: Effect of sucrose and sodium chloride on the survival and metabolic activity of *Lactococcus lactis* under high-pressure conditions. *In: Prog. Biotechnol.*, Elsevier, 2002, pp.: 295-302.
97. - MOLINA G., IACUTE, A.A.D., SANZ P.D.: *Anisakis simplex* Larva Killed by High-Hydrostatic-Pressure Processing. *J. Food Prot.*, 2002, **65**, 383-388.
98. - MOUSSA M., PERRIER-CORNET J.-M., GERVAIS P.: Synergistic and antagonistic effects of combined subzero temperature and high pressure on inactivation of *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2006, **72**, 150-156.
99. - MOUSSA M., PERRIER-CORNET J.-M., GERVAIS P.: Damage in *Escherichia coli* Cells Treated a Combination of High Hydrostatic Pressure and Subzero Temperature. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2007, **73**, 6508-6518.
100. - MURCHIE L.W., CRUZ-ROMERO M., KERRY J.P., LINTON M., PATTERSON M.F., SMIDDY M., KELLY A.L.: High pressure processing of shellfish: A review of microbiological and other quality aspects. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2005, **6**, 257-270.
101. - NOMA S., TOMITA C., SHIMODA M., HAYAKAWA I.: Response of *Escherichia coli* O157:H7 in apple and orange juices by hydrostatic pressure treatment with rapid decompression. *Food Microbiol.*, 2004, **21**, 469-473.
102. - OHNISHI Y., ONO T., SHIGEHISA T.: Histochemical and morphological studies on *Trichinella spiralis* larvae treated with high hydrostatic pressure. *Int. J. Parasit.*, 1994, **24**, 425-427.
103. - OTAKE T., MORI H., KAWAKA T., IZUMOTO Y., NISHIMURA H., OISHI I., SHIGEHISA T., OHNO H.: Effects of high hydrostatic pressure treatment of HIV infectivity. *In: K. HEREMANS, éd.: High Pressure Research in the Biosciences and Biotechnology*, Leuven University Press, 1997, pp.: 223-236.
104. - OXEN P., KNORR D.: Baroprotective effects of high solute concentrations against inactivation of *Rhodotorula rubra*. *Lebensm.-Wiss. Technol.*, 1993, **26**, 220-223.
105. - PAGAN R., MACKAY B.M.: Relationship between Membrane Damage and Cell Death in Pressure-Treated *Escherichia coli* Cells: Differences between Exponential- and Stationary-Phase Cells and Variation among Strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, **66**, 2829-2834.
106. - PAIDHUNGAT M., SETLOW B., DANIELS W.B., HOOVER D.G., PAPAFRAGKOU E., SETLOW P.: Mechanisms of Induction of Germination of *Bacillus subtilis* Spores by High Pressure. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, **68**, 3172-3175.
107. - PAREDES-SABJA D., GONZALEZ M., SARKER M.R., TORRES J.A.: Combined Effects of Hydrostatic Pressure, Temperature, and pH on the Inactivation of Spores of *Clostridium perfringens* Type A and *Clostridium sporogenes* in Buffer Solutions. *J. Food Sci.*, 2007, **72**, M202-M206.
108. - PATRAS A., BRUNTON N.P., DA PIEVES S., BUTLER F.: Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purées. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2009, **10**, 308-313.
109. - PATTERSON M.: High Pressure treatment of foods. *In: R.K. ROBINSON, C.A. BATT, P.P. PATEL, éd.: Encyclopaedia of foods Microbiology*, Academic Press, 1999, pp.: 1059-1065.
110. - PATTERSON M.F., QUINN M., SIMPSON R., GILMOUR A.: Sensitivity of Vegetative Pathogens to High Hydrostatic Pressure Treatment in Phosphate-Buffered Saline and Foods. *J. Food Prot.*, 1995, **58**, 524-529.
111. - PATTERSON M.F., KILPATRICK D.J.: The Combined Effect of High Hydrostatic Pressure and Mild Heat on Inactivation of Pathogens in Milk and Poultry. *J. Food Prot.*, 1998, **61**, 432-436.
112. - PATTERSON M.F.: Microbiology of pressure-treated foods. *J. Appl. Microbiol.*, 2005, **98**, 1400-1409.
113. - PERRIER-CORNET J.-M., MOUSSA M., GERVAIS P.: Applications des Hautes pressions hydrostatiques en agroalimentaire. *Techniques de l'Ingénieur*, 2009, **F3**,
114. - PILAVTEPE-CELIK M., BALABRAN M.O., ALPAS H., YOUSEF A.E.: Image Analysis Based Quantification of Bacterial Volume Change with High Hydrostatic Pressure. *J. Food Sci.*, 2008, **73**, M424-M429.
115. - PILAVTEPE-CELIK M., BUZRUL S., ALPAS H., BOZOĞLU F.: Development of a new mathematical model for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* by high hydrostatic pressure in carrot juice and peptone water. *J. Food Eng.*, 2009, **90**, 388-394.
116. - RADEMACHER B., WERNER F., PEHL M.: Effect of the pressurizing ramp on the inactivation of *Listeria innocua* considering thermofluidodynamical processes. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2002, **3**, 19-24.
117. - RASO J., GÓNGORA-NIETO M.M., BARBOSA-CÁNOVAS G.V., SWANSON B.G.: Influence of several environmental factors on the initiation of germination and inactivation of *Bacillus cereus* by high hydrostatic pressure. *Int. J. Food Microbiol.*, 1998, **44**, 125-132.
118. - RASTOGI N.K., RAGHAVARAO K.S.M.S., BALASUBRAMANIAM V.M., NIRANJAN K., KNORR D.: Opportunities and Challenges in High Pressure Processing of Foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2007, **47**, 69-112.
119. - REDDY N.R., SOLOMON H.M., TETZLOFF R.C., RHODEHAMEL E.J.: Inactivation of *Clostridium botulinum* Type A Spores by High-Pressure Processing at Elevated Temperatures. *J. Food Prot.*, 2003, **66**, 1402-1407.
120. - REDDY N.R., TETZLOFF R.C., SOLOMON H.M., LARKIN J.W.: Inactivation of *Clostridium botulinum* nonproteolytic type B spores by high pressure processing at moderate to elevated high temperatures. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2006, **7**, 169-175.
121. - REGNARD P.: Recherches expérimentales sur l'influence de très hautes pressions sur les organismes vivants. *CR Hebd. Acad. Sci.*, 1884, **98**, 745-747.
122. - REGNARD P.: Note relative à l'action des hautes pressions sur quelques phénomènes vitaux (mouvement des cils vibratiles, fermentation). *CR Soc. Biol.*, 1884, **36**, 187-188.
123. - RITZ M., FREULET M., ORANGE N., FEDERIGHI M.: Effects of high hydrostatic pressure on membrane proteins of *Salmonella typhimurium*. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, **55**, 115-119.
124. - RITZ M., FEDERIGHI M.: Effets des hautes pressions sur les microorganismes. *In: Traitements ionisants et hautes pressions des aliments*, Polytechnica, 2001, pp.: 171-204.
125. - RITZ M., THOLOZAN J.L., FEDERIGHI M., PILET M.F.: Morphological and Physiological Characterization of *Listeria monocytogenes* Subjected to High Hydrostatic Pressure. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001, **67**, 2240-2247.
126. - RITZ M., THOLOZAN J.L., FEDERIGHI M., PILET M.F.: Physiological damages of *Listeria monocytogenes* treated by high hydrostatic pressure. *Int. J. Food Microbiol.*, 2002, **79**, 47-53.
127. - RIVALAIN N., ROQUAIN J., DEMAZEAU G.R.: Development of high hydrostatic pressure in biosciences: Pressure effect on biological structures and potential applications in Biotechnologies. *Biotechnol. Adv.*, 2010, **28**, 659-672.
128. - ROGER H.: Action des hautes pressions sur quelques bactéries. *CR Hebd. Acad. Sci.*, 1892, **114**,
129. - ROGER H.: Action des hautes pressions sur quelques bactéries. *Arch. Physiol. Norm. Path.*, 1895, **7**, 12-17.
130. - ROSYPAL A.C., BOWMAN D.D., HOLLIMAN D., FLICK G.J., LINDSAY D.S.: Effects of high hydrostatic pressure on embryonation of *Ascaris suum* eggs. *Vet. Parasitol.*, 2007, **145**, 86-89.
131. - ROSYPAL A.C., ZAJAC A.M., FLICK G.J., BOWMAN D.D., LINDSAY D.S.: High pressure processing treatment prevents embryonation of eggs of *Trichuris vulpis* and *Ascaris suum* and induces delay in development of eggs. *Vet. Parasitol.*, 2011, **181**, 350-353.
132. - SANCHO F., LAMBERT Y., DEMAZEAU G., LARGETEAU A., BOUVIER J.M., NARBONNE J.F.: Effect of ultra-high hydrostatic pressure on hydrosoluble vitamins. *J. Food Eng.*, 1999, **39**, 247-253.

133. - SCHEYHING C.H., MEERSMAN F., EHRMANN M.A., HERMANS K., VOGEL R.F.: Temperature–pressure stability of green fluorescent protein: A Fourier transform infrared spectroscopy study. *Biopolymers*, 2002, **65**, 244-253.
134. - SHIGEHISA T., OHMORI T., SAITO A., TAJI S., HAYASHI R.: Effects of high hydrostatic pressure on characteristics of pork slurries and inactivation of microorganisms associated with meat and meat products. *Int. J. Food Microbiol.*, 1991, **12**, 207-215.
135. - SIMONATO F., CAMPANARO S., LAURO F.M., VEZZI A., DA ANGELO M., VITULO N., VALLE G., BARTLETT D.H.: Piezophilic adaptation: a genomic point of view. *J. Biotechnol.*, 2006, **126**, 11-25.
136. - SIMONIN H., DURANTON F., DE LAMBALLERIE M.: New insights into the high pressure processing of meat and meat products. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*, 2012, **11**, 285-306.
137. - SIMPSON R.K., GILMOUR A.: The effect of high hydrostatic pressure on *Listeria monocytogenes* in phosphate-buffered saline and model food systems. *J. Appl. Microbiol.*, 1997, **83**, 181-188.
138. - SLIFKO T.R., RAGHUBEER E., ROSE J.B.: Effect of High Hydrostatic Pressure on *Cryptosporidium parvum* Infectivity. *J. Food Prot.*, 2000, **63**, 1262-1267.
139. - SLONGO A.P., ROSENTHAL A., QUARESMA CAMARGO L.M., DELIZA R., MATHIAS S.P., FALCAO DE ARAGAO G.M.: Modeling the growth of lactic acid bacteria in sliced ham processed by high hydrostatic pressure. *Lebensm.-Wiss. Technol.*, 2009, **42**, 303-306.
140. - SMELT J.P.P.M., RIJKE A.G.F., HAYHURST A.: Possible mechanism of high pressure inactivation of microorganisms. *High Press. Res.*, 1994, **12**, 199-203.
141. - SMELT J.P.P.M.: Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends Food Sci. Technol.*, 1998, **9**, 152-158.
142. - SMELT J.P.P.M., HELLEMONS J.C., WOUTERS P.C., VAN GERWEN S.J.C.: Physiological and mathematical aspects in setting criteria for decontamination of foods by physical means. *Int. J. Food Microbiol.*, 2002, **78**, 57-77.
143. - STEWART C.M., DUNNE C.P., SIKES A., HOOVER D.G.: Sensitivity of spores of *Bacillus subtilis* and *Clostridium sporogenes* PA 3679 to combinations of high hydrostatic pressure and other processing parameters. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2000, **1**, 49-56.
144. - SYED Q.-A., REINEKE K., SALDO J., BUFFA M., GUAMIS B., KNORR D.: Effect of compression and decompression rates during high hydrostatic pressure processing on inactivation kinetics of bacterial spores at different temperatures. *Food Control*, 2011, **25**, 361-367.
145. - TJOMB P.: L'industrie alimentaire sous haute pression: un fabuleux gisement d'innovations. *R.I.A.*, 1992, **477**, 21-22.
146. - TONELLO C.: Applications des hautes pressions en agroalimentaire. *Techniques de l'ingénieur*, 1998, **F3220**, 1-12.
147. - TORRES J.A., VELAZQUEZ G.: Commercial opportunities and research challenges in the high pressure processing of foods. *J. Food Eng.*, 2005, **67**, 95-112.
148. - TORRES J.A., VELASQUEZ: Hydrostatic Pressure processing of foods. In: S. JUN, J. IRUDAYARAJ, eds.: Food Processing operations modelling: design and analysis, Boca Raton, Fla.:CRC Press, 2008, pp.: 173-212.
149. - ULMER H.M., GANZLE M.G., VOGEL R.F.: Effects of High Pressure on Survival and Metabolic Activity of *Lactobacillus plantarum* TMW1.460. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, **66**, 3966-3973.
150. - VAN OPSTAL I., VANMUYSEN S.C.M., MICHIELS C.W.: High sucrose concentration protects *E. coli* against high pressure inactivation but not against high pressure sensitization to the lactoperoxidase system. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **88**, 1-9.
151. - VAN OPSTAL I., VANMUYSEN S.C.M., WUYTACK E.Y., MAS-SCHALCK B., MICHIELS C.W.: Inactivation of *Escherichia coli* by high hydrostatic pressure at different temperatures in buffer and carrot juice. *Int. J. Food Microbiol.*, 2005, **98**, 179-191.
152. - WON PARK S., SOHN K.H., SHIN J.H., LEE H.J.: High hydrostatic pressure inactivation of *Lactobacillus viridescens* and its effects on ultrastructure of cells. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2001, **36**, 775-781.
153. - WOUTERS P.C., GLAASKER E., SMELT J.P.P.M.: Effect of High Pressure on Inactivation Kinetics and Events Related to Proton Efflux in *Lactobacillus plantarum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, **64**, 509-514.
154. - WUYTACK E.Y., MICHIELS C.W.: A study on the effects of high pressure and heat on *Bacillus subtilis* spores at low pH. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, **64**, 333-341.
155. - WUYTACK E.Y., DIELS A.M.J., MICHIELS C.W.: Bacterial inactivation by high-pressure homogenisation and high hydrostatic pressure. *Int. J. Food Microbiol.*, 2002, **77**, 205-212.
156. - YUSTE J., PLA R., MOR-MUR M.: *Salmonella enteritidis* and aerobic mesophiles in inoculated poultry sausages manufactured with high-pressure processing. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2000, **31**, 374-377.
157. - YUSTE J., CAPELLAS M., PLA R., FUNG D.Y.C., MOR-MUR M.: High pressure processing for food safety and preservation: a review. *J. Rapid Meth. Aut. Mic.*, 2001, **9**, 1-10.