

TBP 05

Teknologi High Pressure Thermal Processing (HPTP) Untuk Inaktivasi Spora
Mikroorganisme Dalam Pangan

Evelyn¹, Filipa Silva²

¹Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau

Kampus Binawidya Km 12,5 Simpang Baru Panam, Pekanbaru 28293

²Department of Chemical and Materials Engineering, University of Auckland

20 Symonds Street Auckland New Zealand

evelyn@lecturer.unri.ac.id

Abstrak

Spora bakteri dan beberapa fungi tahan terhadap proses pasteurisasi sehingga dapat bergerminasi dan tumbuh dalam pangan. Selain dapat menyebabkan kerusakan pangan, pertumbuhan mikroba merugikan hingga jumlah tertentu pada pangan berpotensi menyebabkan penyakit pada manusia karena mengkonsumsi pangan yang telah mengandung toksin mikroba. Proses thermal konvensional pada suhu tinggi dapat menginaktivasi spora mikroba namun dapat merusak karakteristik sensoris dan nutrisi dari bahan pangan. High Pressure Thermal Processing (HPTP) adalah metode pengawetan pangan modern yang potensial untuk menginaktivasi spora mikroba serta dapat menjaga kualitas dan nutrisi bahan pangan. Pada penelitian ini, HPTP pada tekanan 600 MPa dan suhu 70°C atau 75°C selama 30 menit diaplikasikan untuk menginaktivasi spora bakteri *Clostridium perfringens* dalam slurry daging dan psikrotrofik *Bacillus cereus* dalam susu skim, spora fungi *Byssoschlamys nivea* dalam puree buah strawberry dan *Neosartorya fischeri* dalam jus apel. Proses inaktivasi juga dibandingkan dengan metode thermal pada suhu dan waktu yang sama. Hasil penelitian menunjukkan bahwa HPTP dapat menurunkan jumlah spora bakteri *C. perfringens* sebesar 2,5 log (75°C) dan *B. cereus* sebesar 5,3 log (70°C). Spora fungi *B. nivea* dan *N. fischeri* dapat direduksi masing-masing sebesar 2,8 log dan 4,3 log (75°C). Terlihat bahwa spora bakteri *Clostridium perfringens* mempunyai tingkat ketahanan yang paling tinggi, sementara spora bakteri *Bacillus cereus* memiliki tingkat resistensi yang paling rendah bahkan jika dibandingkan dengan spora fungi. Proses inaktivasi thermal menunjukkan hanya 0,5 log jumlah spora bakteri yang dapat direduksi, sedangkan spora fungi tidak ada yang tereduksi. HPTP merupakan teknologi yang lebih baik daripada metode thermal untuk mereduksi jumlah spora dalam bahan pangan.

Kata kunci: High Hydrostatic Pressure, Thermal, Bakteri, Kapang, Pasteurisasi.

1.0 PENDAHULUAN

Spora bakteri and fungi merupakan hal yang sangat mengkhawatirkan bagi industri pengolahan makanan karena resistensi spora yang tinggi terhadap perlakuan fisika dan kimia. Contoh mikroorganisme penghasil spora dengan karakteristik tersebut adalah bakteri *Clostridium perfringens* dan *Bacillus cereus*, dan fungi *Byssoschlamys nivea* dan *Neosartorya fischeri*. *C. perfringens* adalah salah satu penyebab utama wabah penyakit pada makanan

setengah matang dan ber-pH rendah ($\text{pH} > 4.6$) seperti daging sapi dan unggas (Juneja dan Majka, 1995; Juneja dan Marmer, 1996; Golden dkk., 2009; Juneja dkk., 2010; Silva dan Gibbs, 2010; Scallan dkk., 2011; Labbé dkk., 2014; Silva dkk., 2014). Wabah keracunan makanan akibat *C. perfringens* biasanya terjadi pada makanan yang disiapkan dalam jumlah besar dan tidak melalui proses pendinginan yang cepat. Spora *C. perfringens* diketahui bisa tahan terhadap suhu $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 1 jam atau lebih (Labbé dkk., 2014). Psikrotrofik *Bacillus cereus* merupakan bakteri penyebab penyakit pada makanan pH rendah yang mengalami proses pendinginan pada saat distribusi seperti susu (Dufrenne dkk., 1995; Carlin dkk., 2000a,b; Silva dan Gibbs, 2010; Silva dkk., 2014). Spora bakteri ini lolos proses pasteurisasi, menghasilkan enterotoksin pada makanan, dan dapat menyebabkan muntah dan diare (Bennett dan Belay, 2001). Resistensi spora psikrotrofik *B. cereus* terhadap panas, atau waktu reduksi desimal (*D*-value) berada antara 1 sampai dengan 100 min pada $90\text{ }^{\circ}\text{C}$, tergantung jenis strain dan media pemanasan (Dufrenne dkk., 1995; Fernández dkk., 2001; Wimalaratne, 2009; Evelyn dan Silva, 2015a). Spora dari fungi *B. nivea* dan *N. fischeri* biasanya menjadi perusak pada makanan pasteurisasi ber-pH tinggi ($\text{pH} < 4.6$) dan bersumber dari buah-buahan seperti jus, sup, jeli, selai, dan buah kaleng (Pitt dan Hocking, 1997; Beuchat, 1998; Silva dkk., 2014). Kedua fungi ini juga mengkhawatirkan bagi kesehatan manusia dan hewan karena diketahui dapat menghasilkan zat mikotoksik (Misawa, dkk., 1962; Nielsen dkk., 1989; Frisvad dan Samson, 1991; Tournas, 1994). Nilai reduksi desimal pada $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ (*D*_{90°C}-value) berada antara 1.5 hingga 23.4 min untuk *N. fischeri* dalam jus buah (Salomão dkk., 2007; Amaeze, 2012; Evelyn dkk. 2016) dan dari 1.8 hingga 6.3 min untuk *B. nivea* dalam bubur strawberry (Aragão, 1989; Evelyn dan Silva, 2015b).

High pressure processing (HPP) adalah teknologi pengolahan pangan non-thermal yang dapat mempertahankan kesegaran, kualitas, serta nutrisi dari bahan pangan (Cullen dkk., 2012). HPP menggunakan tekanan tinggi (biasanya 400–600 MPa) untuk memproses makanan cair dan padat (dengan atau tanpa panas) selama 5 sampai 10 min, dengan cara menginaktivasi mikroorganisme penyebab kerusakan/penyakit, sehingga akhirnya dapat memperpanjang masa simpan makanan. Inaktivasi spora dengan tekanan saja tidak cukup (Patterson, 2005; Evelyn dan Silva, 2015b, 2015c), sehingga perlu untuk mengkombinasikan tekanan dengan suhu, disebut juga dengan HPP-thermal atau High Pressure Thermal Processing (HPTP). Meskipun beberapa studi telah dilakukan untuk menginaktivasi spora-spora ini dengan menggunakan HPTP, namun resistan spora terhadap tekanan–temperatur sangat bervariasi. Oleh karena itu, informasi inaktivasi spora bakteri *C. perfringens* dan psikrotrofik *B. cereus*, dan fungi *B. nivea* dan *N. fischeri* masih sangat diperlukan.

Proses thermal pada temperatur yang tinggi sering berdampak buruk bagi kualitas makanan. Oleh sebab itu dalam studi ini, pengolahan tekanan tinggi atau High pressure processing (HPP) secara tersendiri serta kombinasi dengan panas (HPTP) diinvestigasi untuk menginaktivasi spora dari bakteri *C. perfringens* dalam slurry daging dan psikrotrofik *B. cereus* dalam dalam susu, dan fungi *B. nivea* dalam puree buah strawberry dan *N. fischeri* dalam jus apel. Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu: (i) untuk membandingkan resistensi spora terhadap HPTP-600MPa; (ii) untuk membandingkan resistensi spora terhadap perlakuan thermal, dan (iii) untuk membandingkan metoda HPTP-600 Mpa dan thermal untuk inaktivasi spora resisten.

Tabel 1 Komposisi dan pH susu skim dan slurry daging yang digunakan dalam penelitian ini.*

	Composition (g/100 g)	
	Slurry daging	Susu skim
Kadar air	76.0	90.5
Lemak	7.0	<0.1
Protein	14.0	2.7
Karbohidrat	2.6	4.9
Gula	0.3	4.7
Lainnya	0.4	1.8
pH	6.5	6.5

*Nilai yang disajikan adalah nilai rata-rata dan dianalisa oleh lembaga terakreditasi.

2.0 METODOLOGI

2.1 Bakteri

C. perfringens type A strain NZRM 2621 (= ATCC 12917) diperoleh dari New Zealand Reference Culture Collection. Sedangkan psikrotrofik *B. cereus* ICMP 12442 (= ATCC 9139) diperoleh dari Landcare Research NewZealand.

2.2 Fungi (Kapang)

B. nivea JCM 12806 (= CBS 696.95) dan *N. fischeri* var *fischeri* JCM 1740 (= ATCC 1020, DSM 3700, CBS 101.12, IAM 13864) adalah kapang yang diperoleh dari Japan Collection of Microorganisms. Kedua spesies diisolasi dari produk buah-buahan yang telah dipasteurisasi, sehingga pada studi ini puree strawberry dipakai sebagai media untuk *B. nivea* dan jus apel untuk *N. fischeri* karena produk ini mudah terkontaminasi dengan fungi (kapang) tersebut.

2.3 Komposisi Makanan

Slurry daging digunakan sebagai media untuk *C. perfringens*, sedangkan susu skim digunakan sebagai media untuk *B. cereus*. Kedua media ini mudah terkontaminasi oleh bakteri tersebut. Komposisi slurry daging dan susu skim dapat dilihat di Tabel 1. Puree strawberry diperoleh dari strawberry New Zealand dan dibuat menjadi puree/bubur (pH 3.4, $8.1 \pm 0.1^\circ$ Brix). Jus apel diperoleh dari supermarket lokal (pH 3.7, $10.6 \pm 0.1^\circ$ Brix).

2.4 Produksi Spora

Spora *C. perfringens* diperoleh dengan menginokulasikan 0.1mL kultur starter ke dalam 9.9 mL thioglycolate broth (Difco, Becton Dickinson, France), dan diinkubasi pada 37

°C selama satu hari. Spora diperoleh dengan inokulasi 0.2 mL dari kultur tersebut ke dalam 10 mL medium sporulasi Duncan-strong (DS) dan inkubasi secara anaerob pada 37 °C selama 48 h. Spora *B. cereus* diperoleh dari spread plating 0.1mL kultur starter ke were agar tryptic soy (TSA; Difco, Becton Dickinson, USA) yang mengandung 0.05 g/L $MnSO_4 \cdot 4H_2O$. Kemudian, agar diinkubasi selama 8 hari pada suhu 37 °C pada kondisi aerobik. Spora *B. nivea* dan *N. fischeri* diperoleh dari pertumbuhan dan periode sporulasi 4 minggu suhu 30°C pada agar potato dextrose (PDA) untuk *B. nivea*, dan pada agar malt extract (MEA) untuk *N. fischeri*.

2.5 High Pressure Thermal Processing (HPTP) dan Proses Thermal

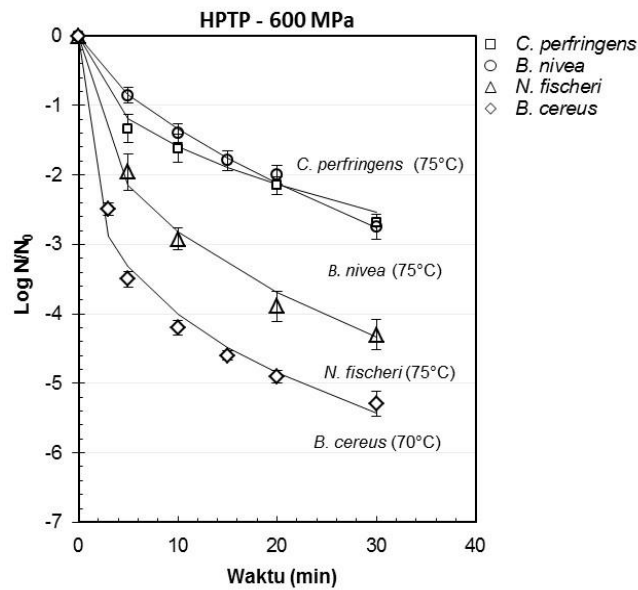
Pada penelitian ini, mesin HPP QFP 2L-700, Avure Technologies, Columbus, USA digunakan untuk proses inaktivasi HPTP. Come up times untuk mencapai 600 Mpa adalah ≤ 1.5 min, dan waktu depressurisasi < 30 s (waktu proses tidak termasuk waktu come up dan depressurisasi). Kantong-kantong yang berisi makanan (slurry daging, susu skim, puree strawberry, dan jus apel) yang telah diinokulasi dengan bakteri atau fungi diberi tekanan 600 Mpa kombinasi dengan suhu 75°C (*C. perfringens*, *B. nivea*, dan *N. fischeri*) atau 70°C (*B. cereus*) selama 30 menit. Untuk proses thermal, kantong-kantong yang berisi makanan (slurry daging, susu skim, puree strawberry, dan jus apel) yang telah diinokulasi dengan bakteri atau fungi direndam dalam water bath pada suhu 75°C (*C. perfringens*, *B. nivea*, dan *N. fischeri*) atau 70°C (*B. cereus*) selama lebih kurang 30 menit. Untuk tiap kombinasi P-T, dilakukan tiga kali pengulangan dan dua sampel diproses tiap waktu. Kantong-kantong sampel yang berisi makanan dan mikroba dikeluarkan dari mesin HPTP atau water bath pada interval waktu tertentu, direndam dalam air es, dan selanjutnya dienumerasi untuk mengetahui jumlah spora yang terinaktivasi.

3.0 HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Pengaruh HPTP Terhadap Pengurangan Spora Bakteri dan Fungi

Pengaruh aplikasi tekanan tinggi 600 Mpa kombinasi dengan suhu 75°C atau 70°C terhadap pengurangan jumlah spora (resistensi) bakteri *C. perfringens* dan *B. cereus*, dan kapang *B. nivea* dan *N. fischeri* selama 30 menit ditampilkan pada Gambar 1. Dapat dilihat dari gambar bahwa semakin lama waktu proses, maka jumlah spora yang terinaktivasi semakin meningkat. Misalnya, pada waktu 5 menit, jumlah spora *C. perfringens*, *B. cereus*, *B. nivea* dan *N. fischeri* adalah 0,9, 1,3, 2,0, dan 3,5 log masing-masingnya. Sedangkan pada waktu 30 menit, jumlah spora *C. perfringens*, *B. cereus*, *B. nivea* dan *N. fischeri* adalah 2,5, 5,3, 2,8, dan 4,3 log masing-masingnya. Terlihat bahwa spora bakteri *C. perfringens* mempunyai tingkat resistensi yang paling tinggi (600 Mpa-75°C), sementara spora bakteri *B. cereus* memiliki tingkat resistensi yang paling rendah (600 Mpa-70°C), bahkan jika dibandingkan dengan spora kapang (fungi) pada suhu 75°C.



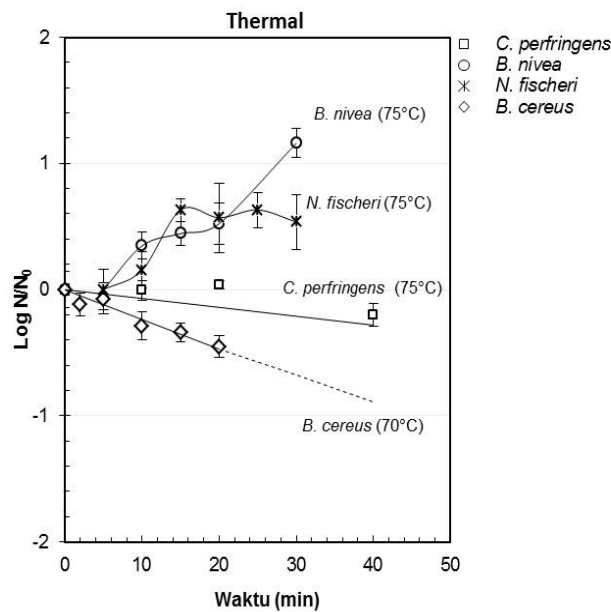


Gambar 1. Resistensi bakteri *Clostridium perfringens* and psikrotrofik *Bacillus cereus*, dan kapang *Byssoschlamys nivea* dan *Neosartorya fischeri* terhadap HPTP-600 MPa.

3.2 Pengaruh Proses Thermal Terhadap Pengurangan Spora Bakteri dan Fungi

Efek proses thermal pada suhu 75°C atau 70°C terhadap pengurangan jumlah spora (resistensi) bakteri *C. perfringens* dan *B. cereus*, dan kapang *B. nivea* dan *N. fischeri* selama 30-40 menit dapat dilihat pada Gambar 2. Selama 30 menit perlakuan, hanya peningkatan jumlah spora/aktivasi dari kapang yang terlihat (0,5-1,0 log), sehingga membuat kapang menjadi mikroba yang paling resisten dalam perlakuan ini. Aktivasi kapang adalah suatu mekanisme yang disebabkan oleh panas pada suhu tertentu, zat kimia, atau faktor lainnya, yang menyebabkan pemecahan dormansi, selanjutnya bergerminasi menjadi sel vegetatif diiringi pertumbuhan hingga beberapa log (Tournas, 1994; Dijksterhuis, 2007). Peningkatan jumlah spora kapang karena pengaruh proses thermal juga pernah diamati oleh peneliti yang lain, dimana jumlah spora juga akan berkurang setelah waktu proses yang lebih lama (Ferreira dkk., 2009). Sementara itu, spora bakteri *C. perfringens* mempunyai tingkat ketahanan terhadap thermal suhu 75°C dibandingkan dengan spora bakteri *B. cereus* terhadap thermal suhu 70°C.

Proses inaktivasi thermal menunjukkan hanya 0,5 log jumlah spora bakteri yang dapat direduksi selama 30 menit, sedangkan spora fungi tidak ada yang tereduksi dalam rentang waktu tersebut (Gambar 2). Sedangkan HPTP dapat mereduksi jumlah spora bakteri dan fungi sebanyak 2,7-5,3 log dalam waktu 30 menit.



Gambar 2. Resistensi bakteri *Clostridium perfringens* and psikrotrofik *Bacillus cereus*, dan kapang *Byssoschlamys nivea* dan *Neosartorya fischeri* terhadap perlakuan thermal.

4.0 KESIMPULAN

Jumlah spora terinaktivasi dengan metode HPTP-600 MPa meningkat seiring meningkatnya waktu proses. HPTP-600 MPa merupakan teknologi yang lebih baik daripada metode thermal untuk mereduksi jumlah spora dalam bahan pangan. Reduksi spora $\geq 2,7$ log dapat diperoleh dengan metoda HPTP dibandingkan hanya $\leq 0,5$ log dengan proses thermal selama 30 menit pada 75 atau 70°C. Waktu proses yang lebih lama dibutuhkan untuk menginaktivasi spora yang lebih banyak (5 log), sehingga suhu HPTP yang digunakan sebaiknya $\geq 70-75^\circ\text{C}$. Terdapat resistensi yang berbeda-beda dari spora bakteri dan fungi terhadap HPTP-600 Mpa dan proses thermal, sehingga spora yang paling resisten seperti *C. perfringens* disarankan untuk digunakan dalam mendesain proses dengan HPTP.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada kemenristek dikti yang membiayai penelitian ini melalui Beasiswa Doktorat Luar Negeri.

Daftar Pustaka

- Amazez, N. 2012. -Heat resistance and inactivation of *Neosartorya fischeri* and *Talaromyces flavus* ascospores in water, phosphate buffers, fruit juices and fruit juices fortified with sugars and preservatives. *Rep. Opin.* 4:18-25.
- Aragão, G.M.F., 1989. Identificação e determinação da resistência térmica de fungos filamentosos termorresistentes isolados da polpa de morango. MSc Thesis, Universidade de Campinas, Brazil.
- Bennett, R.W. and N. Belay. 2001. *Bacillus cereus*. In: Downes, F.P. and K. Ito. (Eds.), Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, Washington, DC, pp. 311-316.

- Beuchat, L.R. 1998. -Spoilage of acid products by heat-resistant moulds. *Dairy Food. Env. Sanit.* 18:588-593.
- Carlin, F., H. Girardin, M.W. Peck, S.C., Stringer, G.C. Barker, A. Martinez, A. Fernandez, P. Fernandez, W.M. Waites, and S. Movahedi. 2000a. -Research on factors allowing a risk assessment of spore-forming pathogenic bacteria in cooked chilled foods containing vegetables: a FAIR collaborative project. *Int. J. Food Microbiol.* 60 (2-3):117-135.
- Carlin, F., M.H. Guinebretiere, C. Choma, R. Pasqualini, A. Braconnier, and C. Nguyen-the. 2000b. -Spore-forming bacteria in commercial cooked, pasteurised and chilled vegetable purees. *Food Microbiol.* 17 (2):153-165.
- Cullen, P.J., B.K. Tiwari, and V.P. Valdramidis. 2012. Status and trends of novel thermal and non-thermal technologies for fluid foods. In: P.J.C.K.T.P. Valdramidis (Ed.). *Novel Thermal and Non-thermal Technologies for Fluid Foods*. Academic Press, San Diego, pp. 1-6.
- Dijksterhuis, J. 2007. Heat-resistant ascospores. In: Dijksterhuis, J. and R.A. Samson (Eds.), *Food Mycology: A Multifaceted Approach to Fungi and Food*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 101-117.
- Dufrenne, J., M. Bijwaard, M. Te Giffel, R. Beumer, S. Notermans. 1995. -Characteristics of some psychrotrophic *Bacillus cereus* isolates. *Int. J. Food Microbiol.* 27 (2-3): 175-183.
- Evelyn, and F.V.M. Silva. 2015a. -Thermosonication versus thermal processing of skim milk and beef slurry: modeling the inactivation kinetics of psychrotrophic *Bacillus cereus* spores. *Food Res. Intl.* 67: 67-74.
- Evelyn, and F.V.M. Silva. 2015b. -Inactivation of *Byssochlamys nivea* ascospores in strawberry puree by high pressure, power ultrasound and thermal processing. *Intl. J. Food Microbiol.* 214:129-136.
- Evelyn, and F.V.M. Silva, 2015c. -High pressure processing of milk: modeling the inactivation of psychrotrophic *Bacillus cereus* spores at 38-70°C. *J. Food Eng.* 165:141-148.
- Evelyn, H.J. Kim, and F.V.M. Silva. 2016. -Modeling the inactivation of *Neosartorya fischeri* ascospores in apple juice by high pressure, power ultrasound and thermal processing. *Food Control* 59:530-537.
- Fernández, A., M. Ocio, P. Fernández, and A. Martínez. 2001. -Effect of heat activation and inactivation conditions on germination and thermal resistance parameters of *Bacillus cereus* spores. *Int. J. Food Microbiol.* 63 (3): 257-264.
- Ferreira, E.H.R., A. Rosenthal, V. Calado, J. Saraiva, and S. Mendo. 2009. -*Byssochlamys nivea* inactivation in pineapple juice and nectar using high pressure cycles. *J. Food Eng.* 95, 664-669.
- Frisvad, J.C., and R.A. Samson. 1991. -Mycotoxins produced by species of *Penicillium* and *Aspergillus* occurring in cereals. In: J. Chelkowski (Ed.), *Cereal grain: Mycotoxins, fungi, and quality in drying and storage*. Elsevier, Amsterdam, pp. 441-476.
- Golden, N.J., E.A. Crouch, H. Latimer, A.R., Kadry, and J. Kause. 2009. -Risk assessment for *Clostridium perfringens* in ready-to-eat and partially cooked meat and poultry products. *J. Food Prot.* 72:1376-1384.
- Juneja, V.K., and W.M. Majka. 1995. -Outgrowth of *Clostridium perfringens* spores in cooking-bag beef products. *J. Food Saf.* 15:21-34.
- Juneja, V.K., and B.S. Marmer. 1996. -Growth of *Clostridium perfringens* from spore inocula in sous-vide turkey products. *Int. J. Food Microbiol.* 32:115-123.

- Juneja, V., J. Novak, R. Labbe, and J. Sofos. 2010. *Clostridium perfringens*. In: Juneja, V.K., and J.N. Sofos (Eds.), *Pathogens and Toxins in Foods: Challenges and Interventions*. ASM Press, Washington DC, pp. 53-70.
- Labbé, R.G., V.K. Juneja, and H.P. Blascheck. 2014. *Clostridium perfringens*. In: Batt, C.A., and M.L. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology*, 2nd edn. Elsevier, Amsterdam, pp. 433–445.
- Pitt, J.I., and A. D. Hocking. 1997. *Fungi and food spoilage*. Blackie Academic and Professional, London, UK.
- Misawa, M., T. Nara, K. Nakayama, and S. Kinoshita. 1962. -Formation of terrein by *Aspergillus fischeri* Wehmer. *Nippon Nogeik Kaishi* 36:699-703.
- Nielsen, P., L. Beuchat, and J. Frisvad. 1989. -Growth of and fumitremorgin production by *Neosartorya fischeri* as affected by temperature, light, and water activity. *Appl. Environ. Microbiol.* 54:1504-1510.
- Patterson, M.F. 2005. Microbiology of pressure-treated foods. *J. Appl. Microbiol.* 98(6):1400-1409.
- Salomão, B.C.M., C. Muller, H.C. Amparo, and G.M.F. Aragão. 2014. -Survey of molds, yeast and *Alicyclobacillus spp.* from a concentrated apple juice productive process. *Braz. J. Microbiol.* 45:49-58.
- Scallan, E., R.M. Hoekstra, F.J. Angulo, R.V. Tauxe, M.A. Widdowson, S.L. Roy, J.L. Jones, and P.M. Griffin. 2011. -Foodborne illness acquired in the United States — major pathogens. *Emerg. Infect. Dis.* 17:7-15.
- Silva, F.V.M., and P.A. Gibbs. 2010. -Non-proteolytic *Clostridium botulinum* spores in low-acid cold-distributed foods and design of pasteurization processes. *Trends Food Sci. Technol.* 21:95-105.
- Silva, F.V.M., P.A. Gibbs, H. Nunez, S. Almonacid, and R. Simpson. 2014. Thermal processes: pasteurization. In: Batt, C.A., and M.L. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology*, 2nd edn. Elsevier, Amsterdam, pp. 577-595.
- Tournas, V., and R.W. Traxler. 1994. -Heat resistance of a *Neosartorya fischeri* strain isolated from pineapple juice frozen concentrate. *J. Food Protect.* 57:814-816.
- Wimalaratne, S.K. 2009. Pressure Assisted Thermal Sterilization: A Novel Means of Processing Foods. PhD thesis, The University of Auckland, New Zealand.

