

BARBARA SOKOŁOWSKA, ŁUCJA ŁANIEWSKA-TROKENHEIM

**ZASTOSOWANIE ZAUTOMATYZOWANEGO ANALIZATORA
MIKROBIOLOGICZNEGO BACT/ALERT® 3D (BIOMERIEUX) DO
WYKRYWANIA ALICYCLOBACILLUS SP. W ZAGĘSZCZONYCH
SOKACH JABŁKOWYCH**

Streszczenie

Acidotermofilne bakterie przetrwalnikujące *Alicyclobacillus acidoterrestis* wytwarzające produkty o nieprzyjemnym (dezynfekcyjnym) zapachu są przyczyną psucia się soków owocowych. Do ich wykrywania zastosowano zautomatyzowany analizator mikrobiologiczny BacT/ALERT® i pożywkę LYM o pH 3,7.

Celem pracy było określenie wpływu zawartości ekstraktu w zagęszczonym soku jabłkowym i dawki inoculum na czas detekcji (długość lag fazy) *A. acidoterrestis* w systemie BacT/ALERT® oraz dopasowanie modelu matematycznego regresji wielokrotnej.

Do badań wykorzystano przetrwalniki 5 szczepów *Alicyclobacillus acidoterrestis* wyizolowanych z próbek zagęszczonych soków jabłkowych i emulsji do produkcji napojów.

W soku o zawartości ekstraktu 35,6 % stwierdzono częściowe zahamowanie wzrostu dwóch szczepów oraz całkowite zahamowanie wzrostu jednego z badanych szczepów. Również w soku o zawartości ekstraktu 23,7 % zaobserwowano częściowe zahamowanie wzrostu 3 szczepów. Czas detekcji (długość lag fazy) wszystkich analizowanych szczepów *A. acidoterrestis* skracał się wraz ze zmniejszaniem zawartości ekstraktu w zagęszczonym soku jabłkowym i ze zwiększaniem dawki inoculum. W soku o zawartości ekstraktu 11,8 % czas detekcji przy inoculum ok. 10 jtk /próbkę soku o obj. 20 cm³ wynosił w zależności od szczepu od 23,5 h do 43,7 h.

Dopasowano równania wielomianowe drugiego stopnia opisujące zależność czasu detekcji (długości lag fazy) od zawartości ekstraktu w soku jabłkowym i poziomu inoculum badanych szczepów. Obliczone współczynniki determinacji R² wynosiły od 0,83 do 0,95 w zależności od szczepu.

Zautomatyzowany analizator mikrobiologiczny BacT/ALERT® może być stosowany w rutynowych badaniach wykrywania obecności *Alicyclobacillus* sp. w zagęszczonych sokach jabłkowych. Zawartość ekstraktu w badanym soku może wynosić co najwyżej 17,8 %.

Słowa kluczowe: *Alicyclobacillus acidoterrestis*, BacT/ALERT®, sok jabłkowy

Mgr inż. B. Sokółowska, Zakład Technologii Przetworów Ovocowych i Warzywnych, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, 02-532 Warszawa ul. Rakowiecka 36, dr hab. Ł. Łaniewska-Trokenheim prof. UWM, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Pl. Cieszyński 1, 10-726 Olsztyn

Wprowadzenie

Acidotermofilne bakterie przetrwalnikujące *Alicyclobacillus acidoterrestris* wytwarzające produkty o nieprzyjemnym (dezynfekcyjnym) zapachu, takie jak: 2-metoksyfenol-gwajakol, 2,6-dibromofenol oraz 2,6-dichlorofenol są przyczyną psucia się soków owocowych [1, 3, 4]. Pochodzą z gleby, skąd przenoszone na owoce przeżywają obróbkę cieplną w procesie produkcji zagęszczonych soków owocowych, stanowiących podstawowy surowiec do produkcji soków odtworzonych.

Bakterie *A. acidoterrestris* rosną w zakresie pH od 2,2 do 5,8 i w temp. od 23 do 55 °C [2]. Ich przetrwalniki wykazują dużą ciepłooporność zależną od rodzaju soku, jego stężenia oraz pH. Przykładowe cytowane w literaturze wartości D_{95} wynoszą: 2,8 min w soku jabłkowym o pH 3,5 i zawartości ekstraktu 11,4°Bx [12], 2,4 min w soku z winogron o pH 3,3 i zawartości ekstraktu 15,8°Bx [12], 5,3 min w napoju pomarańczowym o pH 4,1 i zawartości ekstraktu 5,3°Bx [1].

Zasada oznaczenia w zautomatyzowanym analizatorze BacT/ALERT[®] polega na kolorymetrycznym pomiarze poziomu metabolitów wytwarzanych przez rosnące drobnoustroje. Butelki z pożywką wyposażone są w membranę przepuszczalną dla wybranych metabolitów (CO₂ oraz kwasy organiczne, takie jak octowy, propionowy i bursztynowy) oraz czujnik reagujący zmianą barwy przy założonym poziomie zaadsorbowanych metabolitów. Dno butelki, z którym zintegrowany jest czujnik, jest skanowane czerwonym światłem w odstępach 10-minutowych. Obrazem prowadzonych pomiarów jest generowana przez komputer krzywa zależności zmian refleksyjności w czasie, przyjmująca kształt krzywej wzrostu. Do wykrywania bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* w systemie BacT/ALERT[®] zaprojektowano pożywkę węglowodanową LYM o pH 3,7 [5].

Celem pracy było określenie wpływu zawartości ekstraktu w zagęszczonym soku jabłkowym i dawki inoculum na czas detekcji (długość lag fazy) *A. acidoterrestris* w systemie BacT/ALERT[®] oraz dopasowanie modelu matematycznego regresji wielokrotnej.

Material i metody badań

Badania z zastosowaniem zautomatyzowanego analizatora BacT/ALERT[®] firmy bioMérieux i pożywki LYM (pH 3,7 regulowane dodatkiem kwasu winowego w ilości 1,2 cm³) wykonywano zgodnie z instrukcją producenta, stosując próbki zagęszczonego soku jabłkowego o objętości 20 cm³ i różnej zawartości ekstraktu (35,6 %, 23,7 %, 17,8 % i 11,8 %), kontaminowane inoculum przetrwalników szczepów *Alicyclobacillus acidoterrestris* (w zakresie od 10¹ do 10⁴ jtk). Próbki poddawano szokowi termicznemu w temp. 80 °C przez 10 min, wprowadzono do butelek z pożywką LYM i inkubowano w analizatorze w temp. 45 °C. Oznaczenia wykonywano w dwóch powtórzeniach.

Do badań zastosowano przetrwalniki pięciu szczepów *Alicyclobacillus acidoterrestris* wyizolowanych z próbek zagęszczonego soku jabłkowego (oznakowanych TO-29/4/02, TO-117/02, TO-169/06 i U-44/25/06) i z emulsji do produkcji napojów (szczep oznakowany TO-57/1/04); do ich izolacji zastosowano IFU-Method No 12, January 2004/February 2006 „First Standard IFU-Method on the Detection of *Alicyclobacillus* sp. in Fruit Juices”. Szczepy zakwalifikowano do gatunku *Alicyclobacillus acidoterrestris* na podstawie ich zdolności do wytwarzania kwasu z erytritolu [1] oraz do wytwarzania gwajakolu w pożywce Va-YSG [6, 7].

W celu uzyskania przetrwalników szczepy *Alicyclobacillus acidoterrestris* inkubowano na pożywce PDA (Oxoid) o pH 4,0 w temp. 45 °C. Obecność przetrwalników oceniano w trakcie inkubacji metodą mikroskopową. Po 10 dniach ponad 90 % komórek wytworzyło przetrwalniki. Zebraną z 2 płytek biomasę bakterii zawieszano w ok. 20 cm³ jałowej wody destylowanej i odwirowywano trzykrotnie przez 10 min przy 14000 obr./min, przemywając jałową wodą destylowaną, 50 % roztworem alkoholu etylowego i ponownie jałową wodą destylowaną [8, 9, 10]. Następnie biomasę zawieszano w 5 cm³ jałowej wody destylowanej i przechowywano w chłodziarce w temp. 4 °C. Końcową zawartość przetrwalników oznaczano metodą płytkową na BAT-agar o pH 4,0 (Merck) po inkubacji 5 dni w 45 °C.

Obliczenia statystyczne przeprowadzono z wykorzystaniem pakietu Statistica. Do konstrukcji modeli powierzchni odpowiedzi zastosowano funkcje wielomianowe drugiego rzędu.

Wyniki i dyskusja

We wcześniej przeprowadzonych badaniach [11] zaobserwowano brak wzrostu przetrwalników *A. acidoterrestris* DSM 2498 w zagęszczonym soku jabłkowym o zawartości ekstraktu 69,0 %, nawet przy inoculum $5,7 \times 10^5$ jtk/20 cm³ soku. W niniejszym doświadczeniu stwierdzono brak wzrostu jednego z badanych szczepów (TO-117/02) w soku o zawartości ekstraktu 35,6 % oraz częściowe zahamowanie wzrostu dwóch innych badanych szczepów (TO-169/06 i TO-57/1/04). Szczepy te rosły w soku o zawartości ekstraktu 35,6 % tylko przy dużych dawkach inoculum wynoszących odpowiednio $6,8 \times 10^3$ i $1,3 \times 10^3$ jtk/20 cm³ soku, a czas ich detekcji wynosił odpowiednio 44,6 h i 76,6 h (tab. 1). Również w soku o zawartości ekstraktu 23,7 % stwierdzono częściowe zahamowanie wzrostu trzech badanych szczepów przy inoculum rzędu pojedynczych komórek w próbce soku o pojemności 20 cm³. Czas detekcji (długość lag fazy) wszystkich analizowanych szczepów *A. acidoterrestris* skracał się wraz ze zmniejszaniem zawartości ekstraktu w zagęszczonym soku jabłkowym i ze zwiększaniem dawki inoculum. W soku o zawartości ekstraktu 11,8 % czas detekcji przy inoculum ok. 10^4 jtk/20 cm³ próbki soku wynosił w zależności od szczepu od 19,4 do 24,0 h.

T a b e l a 1

Czas detekcji szczepów *Alicyclobacillus acidoterrestris* w próbkach zagęszczonego soku jabłkowego, w systemie BacT/ALERT®, w zależności od dawki inoculum i zawartości ekstraktu.

Detection time of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in samples of concentrated apple juice, in the BacT/ALERT® system, depending on the inoculum dose and the content of extract.

Medium	Szczep <i>A. acidoterrestris</i> / <i>A. acidoterrestris</i> strain											
	TO-29/4/02		TO-11/7/02		TO-57/1/04		U-44/25/06		TO-169/06			
	Inoculum [jtk/butelke] [cfu/bottle]	Czas detekcji [h]*	Inoculum [jtk/butelke] [cfu/bottle]	Czas detekcji [h]*	Inoculum [jtk/butelke] [cfu/bottle]	Czas detekcji [h]*	Inoculum [jtk/butelke] [cfu/bottle]	Czas detekcji [h]*	Inoculum [jtk/butelke] [cfu/bottle]	Czas detekcji [h]*	Inoculum [jtk/butelke] [cfu/bottle]	Czas detekcji [h]*
Zagęszczony sok jabłkowy 1:1 ekstrakt: 35,6 %, pH: 3,36 Concentrated apple juice 1:1 Extract: 35,6 % pH: 3,36	3,5 x 10 ³	43,9	1,1 x 10 ⁴	>168	1,2 x 10 ⁴	65,0	1,4 x 10 ³	29,3	6,8 x 10 ³	44,6		
	3,5 x 10 ²	51,6	1,1 x 10 ³	>168	1,2 x 10 ³	76,6	1,4 x 10 ²	33,6	6,8 x 10 ²	>168		
	3,5 x 10 ¹	60,9	1,1 x 10 ²	>168	1,2 x 10 ²	>168	1,4 x 10 ¹	35,8	6,8 x 10 ¹	>168		
	3,5 x 10 ⁰	>168	1,1 x 10 ¹	>168	1,2 x 10 ¹	>168	1,4 x 10 ⁰	>168	6,8 x 10 ⁰	>168		
Zagęszczony sok jabłkowy 1:2 ekstrakt: 23,7 %, pH: 3,44 Concentrated apple juice 1:2 Extract: 23,7 % pH: 3,44	3,5 x 10 ³	28,8	1,1 x 10 ⁴	42,7	1,2 x 10 ⁴	31,0	1,4 x 10 ³	22,6	6,8 x 10 ³	24,5		
	3,5 x 10 ²	32,6	1,1 x 10 ³	47,5	1,2 x 10 ³	36,2	1,4 x 10 ²	25,2	6,8 x 10 ²	27,6		
	3,5 x 10 ¹	36,2	1,1 x 10 ²	56,2	1,2 x 10 ²	36,5	1,4 x 10 ¹	29,0	6,8 x 10 ¹	30,5		
	3,5 x 10 ⁰	>168	1,1 x 10 ¹	61,0	1,2 x 10 ¹	41,0	1,4 x 10 ⁰	>168	6,8 x 10 ⁰	>168		
Zagęszczony sok jabłkowy 1:3 ekstrakt: 17,8 %, pH: 3,44 Concentrated apple juice 1:3 Extract: 17,8 % pH: 3,44	3,5 x 10 ³	24,9	1,1 x 10 ⁴	30,0	1,2 x 10 ⁴	25,0	1,4 x 10 ³	20,9	6,8 x 10 ³	20,4		
	3,5 x 10 ²	28,3	1,1 x 10 ³	35,0	1,2 x 10 ³	26,6	1,4 x 10 ²	22,6	6,8 x 10 ²	22,8		
	3,5 x 10 ¹	31,7	1,1 x 10 ²	42,7	1,2 x 10 ²	27,6	1,4 x 10 ¹	24,7	6,8 x 10 ¹	25,7		
	3,5 x 10 ⁰	35,0	1,1 x 10 ¹	43,7	1,2 x 10 ¹	31,0	1,4 x 10 ⁰	30,0	6,8 x 10 ⁰	30,5		
Zagęszczony sok jabłkowy 1:5 ekstrakt: 11,8 %, pH: 3,44 Concentrated apple juice 1:5 Extract: 11,8 % pH: 3,44	3,5 x 10 ³	23,5	1,1 x 10 ⁴	24,0	1,2 x 10 ⁴	19,4	1,4 x 10 ³	19,9	6,8 x 10 ³	19,4		
	3,5 x 10 ²	25,9	1,1 x 10 ³	30,0	1,2 x 10 ³	24,7	1,4 x 10 ²	22,3	6,8 x 10 ²	19,7		
	3,5 x 10 ¹	28,8	1,1 x 10 ²	32,9	1,2 x 10 ²	25,4	1,4 x 10 ¹	23,5	6,8 x 10 ¹	22,8		
	3,5 x 10 ⁰	43,7	1,1 x 10 ¹	36,7	1,2 x 10 ¹	27,6	1,4 x 10 ⁰	28,8	6,8 x 10 ⁰	23,5		

*Wartość średnia z dwóch oznaczeń / *Mean value of two replicates

Obniżenie wielkości inoculum do poziomu ok. 10 jtk/20 cm³ próbki soku o zawartości 11,8 % ekstraktu spowodowało wydłużenie czasu detekcji do 23,5 - 43,7 h, w zależności od szczepu (tab. 1). Najmniejsza, obserwowana w tym doświadczeniu, wykrywana liczba *A. acidoterrestris* wynosiła 1,4×10⁰ jtk/20 cm³ soku o zawartości 11,8 %, a czas jej wykrycia to 28,8 h. W soku o zawartości 17,8 % ekstraktu tę samą liczbę drobnoustrojów wykrywano w dłuższym okresie – 30 h.

W materiałach informacyjnych firmy bioMerieux [5] podano podobne dane, czas detekcji 48 jtk *A. acidoterrestris* ATCC 49025 w 20 cm³ próbki soku jabłkowego wynosił 54,9 h. Handlowy sok jabłkowy zawiera min. 11,2 % ekstraktu.

W badaniach [13] stwierdzono wzrost *A. acidoterrestris* w temp. 35 °C w soku jabłkowym o zawartości ekstraktu 10⁰Bx w zakresie pH od 2,9 do 3,9 oraz dawce inoculum 10¹/ml i 10³/ml. Podobnie w sokach o zawartości ekstraktu 20⁰Bx obserwowano wzrost przy pH 2,9 do 3,9 i inoculum 10³/ml. W przypadku mniejszej dawki inoculum nie stwierdzono wzrostu w tym soku jedynie przy pH 2,9. Natomiast w sokach o zawartości ekstraktu 30⁰, 40⁰ i 50⁰Bx stwierdzono całkowite zahamowanie wzrostu *A. acidoterrestris*.

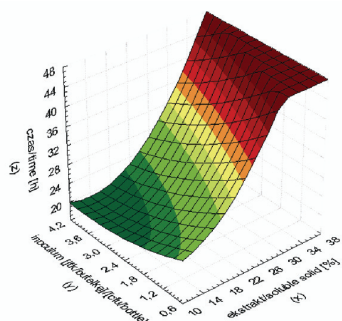
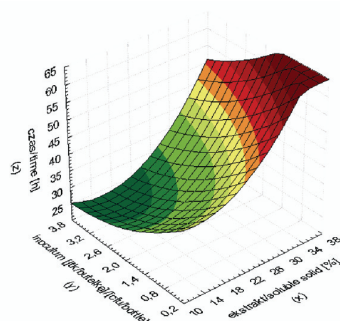
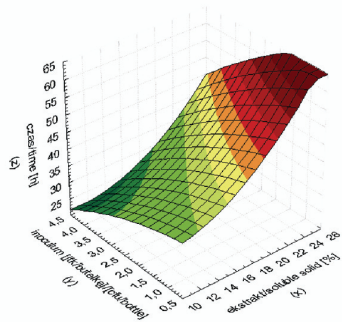
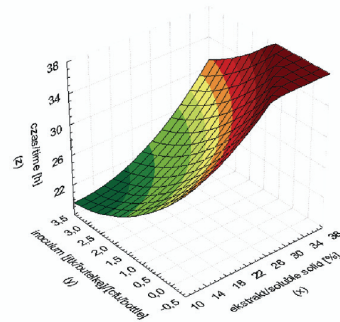
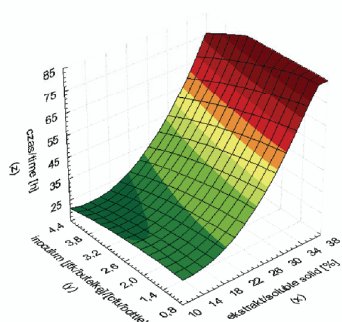
Obliczenia statystyczne przeprowadzono z wykorzystaniem pakietu Statistica. Dla każdego badanego szczepu dopasowano równanie wielomianowe drugiego stopnia opisujące zależność czasu detekcji (długości lag fazy) od zawartości ekstraktu w soku jabłkowym i poziomu inoculum (rys. 1). Obliczone współczynniki determinacji R² wynosiły od 0,83 do 0,95 w zależności od szczepu, co oznacza że zmienność czasu detekcji jest w 83 do 95 % wyjaśniana przez dopasowany model (tab. 2).

Tabela 2

Równania wielomianowe opisujące zależność czasu detekcji szczepów *A. acidoterrestris* od zawartości ekstraktu w soku jabłkowym i dawki inoculum.

Polynomial equations describing the dependency between the detection time of *A. acidoterrestris* strains, the content of extract in apple juice, and inoculum dose.

Szczep / Strain <i>A. acidoterrestris</i>	Równania Equations	F	R ²
TO-29/4/02	$z = 6,917 + 6,568x - 48,342y - 0,02x^2 - 1,589xy + 14,988y^2$	26,618	0,8287
TO-117/02	$z = 115,84 - 9,707x - 5,815y + 0,315x^2 + 0,178xy - 0,388y^2$	92,870	0,9538
TO-57/1/04	$z = 10,777 - 3,042x + 28,811y + 0,236x^2 - 1,633xy - 0,85y^2$	34,750	0,8634
TO-169/04	$z = 28,113 - 0,588x - 2,13y + 0,049x^2 - 0,185xy + 0,534y^2$	28,911	0,8653
U-44/25/06	$z = -35,599 + 7,85x - 36,906y - 0,056x^2 - 1,882xy + 16,925y^2$	76,250	0,9331

a) Szczep/Strain *A. acidoterrestris* TO-169/06b) Szczep/Strain *A. acidoterrestris* TO-29/A/02c) Szczep/Strain *A. acidoterrestris* TO-117/02d) Szczep/Strain *A. acidoterrestris* U-44/25/06e) Szczep/Strain *A. acidoterrestris* TO-57/1/04

Rys. 1. Płaszczyzny reakcji czasu detekcji *A. acidoterrestris* w zależności od zawartości ekstraktu i wielkości inoculum.

Fig. 1. *A. acidoterrestris* detection time response surface depending on the content of extract (of soluble solids) and inoculum dose.

Wnioski

1. Zautomatyzowany analizator mikrobiologiczny BacT/ALERT[®] firmy bioMerieux i pożywka LYM umożliwiają wykrycie *Alicyclobacillus acidoterrestris* przy zanieczyszczeniu na poziomie pojedynczych komórek w próbce soku jabłkowego o objętości 20 cm³.
2. System BacT/ALERT[®] może być stosowany w rutynowych badaniach wykrywania obecności *Alicyclobacillus* sp. w zagęszczonych sokach jabłkowych. Zawartość ekstraktu w badanym soku może wynosić co najwyżej 17,8 %.
3. Zdolność do wzrostu w sokach jabłkowych o podwyższonej zawartości ekstraktu jest cechą szczepową *A. acidoterrestris*.
4. Zawartość ekstraktu w soku jabłkowym i poziom inoculum są podstawowymi czynnikami determinującymi czas detekcji (długość lag fazy) *A. acidoterrestris*.

Praca była prezentowana podczas obrad VI Konferencji Naukowej nt. „Nowoczesne metody analityczne w zapewnieniu jakości i bezpieczeństwa żywności”, Warszawa, 6 – 7 grudnia 2007 r.

Literatura

- [1] Baumgart J., Husemann M., Schmidt C.: *Alicyclobacillus acidoterrestris*: Vorkommen, Bedeutung und Nachweis in Getränken und Getränkegrundstoffen. *Fluss. Obst*, 1997, **64(4)**, 178-180.
- [2] Baumgart J., Menje S.: The impact of *Alicyclobacillus acidoterrestris* on the quality of juices and soft drinks, 2000, *Fruit Process.* **10(7)**, 251-254.
- [3] Borlinghaus A., Engel R.: *Alicyclobacillus* incidence in commercial apple juice concentrate (AJC) supplies and validation. *Fruit Process.*, 1997, **7(7)**, 262-266.
- [4] Jensen N. and F.B. Whitfield F.B.: Role of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in the development of a disinfectant taint in shelf-stable fruit juice, 2003, *Lett. Appl. Microbiol.*, **36**, 9-14.
- [5] Materiały informacyjne bioMerieux dotyczące butelek z pożywką BacT/ALERT i LYM
- [6] Niwa M.: Control of hazardous bacteria in acidic beverages by using a guaiacol detection kit (peroxidase method). *Fruit Process.*, 2005, **15(6)**, 388-392.
- [7] Niwa M., Kuriyama A.: *A. acidoterrestris* Rapid detection kit. *Fruit Process.*, 2003, **13(5)**, 328-331.
- [8] Pacheco C. P.: Sensibility and specificity of methods for *Alicyclobacillus* detection and quantification: A collaborative study. *Fruit Process.*, 2002, **11**, 478-482.
- [9] Silva F.V.M., Gibbs P., Silva C.L.M.: Establishing a new pasteurisation criterion based on *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores for shelf-stable high – acidic fruit products, *Fruit Process.*, 2000, **4**, 138-141.
- [10] Silva F.V.M., Gibbs P.: *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in fruit products and design of pasteurization processes. *Trends Food Sci. Technol.*, 2001, **12**, 68-74.
- [11] Sokółowska B., Molenda A., Czajkowska D.: Application of BacT/ALERT for the detection of *Alicyclobacillus* sp. in apple concentrated juices. *Proc. Int. Conf. Biological and Chemical Factors of Environmental Contamination*, CEMERA Center of Excellence established at the Warsaw University, Faculty of Biology, 2005, p. 44.

- [12] Splittstoesser D.F., Churey J.J., Lee C.Y.: Growth characteristic of aciduric sporeforming bacilli isolated from fruit juices, 1994, J. Food Prot., **57(12)**, 1080-1083.
- [13] Walls I. and Chuyate R.: Spoilage of fruit juices by *Alicyclobacillus acidoterrestris*. Food Austr., 2000, **52(7)**, 286-288.

APPLYING 'BACT/ALERT®3D (BIOMERIEUX)' AUTOMATED MICROBIAL DETECTION SYSTEM TO DETECT ALICYCLOBACILLUS SP. IN CONCENTRATED APPLE JUICES

Summary

Alicyclobacillus acidoterrestris, acido-thermophilic spore forming bacteria, which produce an unpleasant (disinfectant) odour, cause fruit juices to become spoiled. An automated microbial detection system, BacT/ALERT®, and a LYM medium (pH 3,7) were used to detect those bacteria.

The objective of the study was to determine the impact the content of extract (the content of soluble solids) in concentrated apple juice and the inoculum dose had on the detection time (length of lag phase) of *A. acidoterrestris* in the BacT/ALERT® system, and to adjust the mathematical multiple regression model.

Five *Alicyclobacillus acidoterrestris* strains isolated from the samples of concentrated apple juices and beverage production emulsions were investigated.

As for the juice containing 35.6 % of extract (of the soluble solids), it was found that the growth of two strains was partially inhibited, and the growth of one of the examined strains was totally inhibited. Additionally, as for the juice containing 23.7 % of extract (of the soluble solids), it was found that the growth of three strains was partially inhibited. The detection time (length of lag phase) of all the examined *A. acidoterrestris* strains became shorter along with the decrease in the extract content in the concentrated apple juice and along with increase in the dose of inoculum. As for juice with 11.8 % of extract, the detection time, when the dose of inoculum was about 10 cfu per 20 cm³ juice sample, ranged between 23.5 h up to 43.7 h depending on the strain.

Polynomial equations of second degree, which describe the dependence between the detection time (length of lag phase), the content of extract (of soluble solids), and the inoculum level, was adjusted. The R² determination coefficients calculated ranged from 0.83 to 0.95 depending on the strain.

It is possible to apply the BacT/ALERT® automated microbial detection system to detect *Alicyclobacillus sp.* in concentrated apple juices when performing routine investigations. The content of extract (of soluble solids) in the juice investigated should be 17.8 % at the most.

Key words: *Alicyclobacillus acidoterrestris*, BacT/ALERT®, and apple juice. ☒