

LA TÈCNICA DE CONSERVACIÓ D'ALIMENTS PER PULSACIONS ELÈCTRIQUES

OLGA MARTÍN BELLOSO;
GUSTAVO V. BARBOSA CÁNOVAS
Departament de Tecnologia d'Aliments
Universitat de Lleida

E*N els darrers anys s'estan desenvolupant tecnologies alternatives al tractament tèrmic per al processament dels aliments entre les quals es troba l'aplicació de pulsacions elèctriques d'alta intensitat de camp. Aquest tractament destrueix els microorganismes per ruptura de la paret cel·lular, i la seva efectivitat depèn tant de factors elèctrics com de les característiques físiques i químiques de l'aliment i del tipus i naturalesa del microorganisme. L'efecte del tractament sobre els enzims que causen el deteriorament dels aliments està menys estudiat, però s'està trobant un alt grau d'inactivació enzimàtica. Els estudis sobre aquesta tecnologia fets tant al laboratori com en planta pilot estan donant resultats que s'espera que permetin, en un futur pròxim, la transferència d'aquesta tecnologia a la indústria.*

INTRODUCCIÓ

L'esterilització tèrmica és la forma més usada i més efectiva de conservació d'aliments, ja que destrueix microorganismes i inactiva enzims, però també té efectes negatius, com l'alteració de les característiques organolèptiques i la destrucció de nutrients. Per tant, s'estan desenvolupant noves tecnologies per al processament d'aliments, amb l'objectiu d'aconseguir els mateixos o millors resultats d'esterilització i inactivació enzimàtica amb una reducció menor de la qualitat nutritiva o organolèptica dels productes obtinguts respecte de l'aliment fresc. L'aplica-

ció de pulsacions elèctriques d'alta intensitat de camp pot ser una bona alternativa a la calor en el processament dels aliments.

EFFECTES DE LES PULSACIONS ELÈCTRIQUES SOBRE MICROORGANISMES I ENZIMS

L'ús d'electricitat per a la conservació d'aliments data de principi d'aquest segle. Fetterman (1928) va utilitzar la conductivitat elèctrica per inactivar *Tubercle bacili* i *E. coli* en llet i Getchell (1935) va pasteuritzar aquest aliment a 71 °C durant 15 µs mit-

jançant el pas de corrent elèctric com a forma de generar calor. Entre 1928 i 1938 es van consumir com a mínim 200 milions de litres de llet pasteuritzats elèctricament (Moses, 1938).

Els primers estudis sistemàtics sobre inactivació de microorganismes per aplicació de camps elèctrics homogenis d'alt voltatge van ser realitzats per Sale i Hamilton (1967, 1968). Aquests investigadors van tractar suspensions de microorganismes amb camps elèctrics de fins a 25 kV/cm en pulsacions des de 2 a 20 µs. Van observar que potencials a través de la membrana cel·lular d'1V o més grans produïen variacions en l'estructura de la membrana i s'hi obrien porus irreversibles. D'això es va deduir que aquest potencial era crític per a la inactivació de bacteris i depenia de la mida i de la forma de la cèl·lula (Hülshager [et al.], 1983; Zimmermann [et al.], 1974; Jayaram [et al.], 1992), estudiant la inactivació de cèl·lules de *Lactobacillus brevis* per aplicació de pulsacions d'alta intensitat de camp elèctric, van concloure que la destrucció dels microorganismes era deguda al fet que la diferència de potencial elèctric a ambdós costats de la membrana cel·lular produïa la seva ruptura i no per un efecte de la calor.

Hamilton i Sale (1967) no van observar, mitjançant microscòpia electrònica, danys a les membranes d'*E. coli* ni a les d'eritròcits després de tractar-los amb 10 pulsacions de 20 µs a 25 kV/cm. Tanmateix, Pothakamury (1995) va observar que la membrana de les cèl·lules d'*E. coli* tractades amb pulsacions elèctriques tenia un aspecte rugós i el citoplasma estava distribuït irregularment i presentava un aspecte granular; quan es van

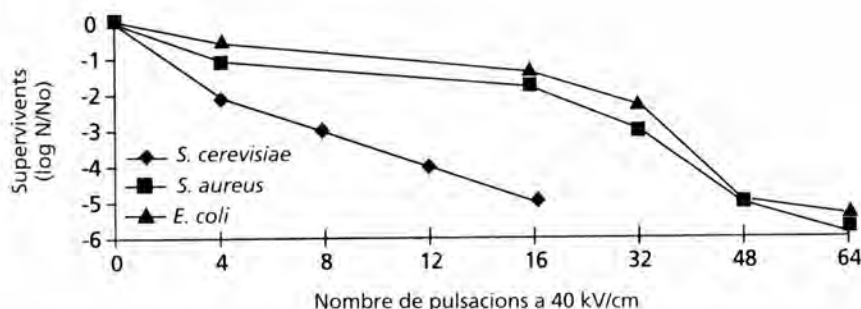
tractar suspensions de *S. aureus* amb pulsacions elèctriques, es va poder observar la ruptura de la paret cel·lular. Igualment, Sato [et al.], 1988 i Harrison [et al.], 1996 van observar que les cèl·lules de *Saccharomyces cerevisiae* tractades amb pulsacions elèctriques eren diferents de les no tractades, per un efecte evident del camp elèctric aplicat.

Sale i Hamilton (1967, 1968) van observar que la inactivació de la població bacteriana depenia de la intensitat de les pulsacions elèctriques i del temps de tractament (durada de la pulsació × nombre de pulsacions). Els llevats eren més sensibles que els bacteris (figura 1) i les espores van resistir els tractaments amb pulsacions elèctriques. Jacob [et al.], 1981 van trobar que les cèl·lules de llevat en la seva fase logarítmica de creixement eren molt més sensibles a l'aplicació de camps elèctrics que les que estaven en fase estacionària. A més a més, van trobar que la velocitat de destrucció de microorganismes variava de la mateixa manera amb el camp elèctric aplicat i amb el nombre de pulsacions. Hülshager [et al.], 1983 van descriure un model matemàtic que relaciona la velocitat de reducció de la població bacteriana amb el camp elèctric i el temps aplicats.

Vega [et al.], 1996a van demostrar que la velocitat d'inactivació dels microorganismes disminuïa amb un augment de la força iònica del medi quan es va tractar amb pulsa-

L'aplicació de pulsacions elèctriques d'alta intensitat de camp pot ser una bona alternativa a la calor en el processament dels aliments.

FIGURA 1
Inactivació de microorganismes per pulsacions elèctriques d'alta intensitat de camps a 15 °C



cions elèctriques de 55 kV/cm una solució model de llet inoculada amb *E. coli*. En aquest estudi es va demostrar que l'efectivitat del tractament augmentava quan els valors de pH baixaven. D'altra banda, la temperatura augmenta com a màxim 10 °C durant el tractament (Sale i Hamilton, 1967; Neumann, 1989; Hülshager, 1981) tot i que l'efecte en la inactivació de microorganismes és més gran quan augmenta la temperatura de tractament, tal com van demostrar Zhang [et al.], 1994a amb suspensions d'*E. coli* en solució model de llet a temperatures constants de 7,20 °C i 33 °C.

Combinant els diferents paràmetres i factors que incideixen en la inactivació de microorganismes s'ha aconseguit reduir, en gran part, la proporció de supervivents inoculada en diferents medis. Jayaram [et al.], 1992 van aconseguir una reducció de 10⁹ en una població de *Lactobacillus brevis* en solució reguladora de fosfats. La població d'*E. coli*, suspesa en solució model de llet es va reduir en 10⁹ quan es va tractar a 20 °C amb 64 pulsacions de 2 µs a 70 kV/cm (Zhang [et al.], 1994a) i es van obtenir 5-6 cicles logarítmics de reducció de la població d'*E. coli*, *S. aureus* i *S. cerevisiae* en un model d'aliment sòlid amb pulsacions de 3 µs a 40 kV/cm i una temperatura de 15 °C (Zhang [et al.], 1994b).

Grahl [et al.], 1992 va estudiar l'efecte de les pulsacions elèctriques d'alta intensitat de camp sobre microorganismes suspesos en aliments i va aconseguir entre 4 i 5 reduccions logarítmiques de *S. cerevisiae*, *L. brevis* i *E. coli*, inoculats en suc de taronja i llet sense alteracions de les propietats organolèptiques ni nutritives de cap dels dos aliments; tanmateix, les endòspores de *Cl. tyrobutyricum* inoculades en llet no es van veure afectades per camps elèctrics de 23 kV/cm. Martín-Belloso [et al.], 1996a van reduir en 10³ una població inicial de 10⁷ ufc/ml d'*E. coli* inoculat en llet mitjançant l'aplicació de pulsacions d'1,5 µs a 30

kV/cm a una temperatura constant de 15 °C; Dunn i Pearlman (1987 i 1989) van observar el mateix grau de destrucció del microorganisme en aquest aliment, a 43 °C amb 23 pulsacions de 20 kV/cm. El tractament del microorganisme inoculat

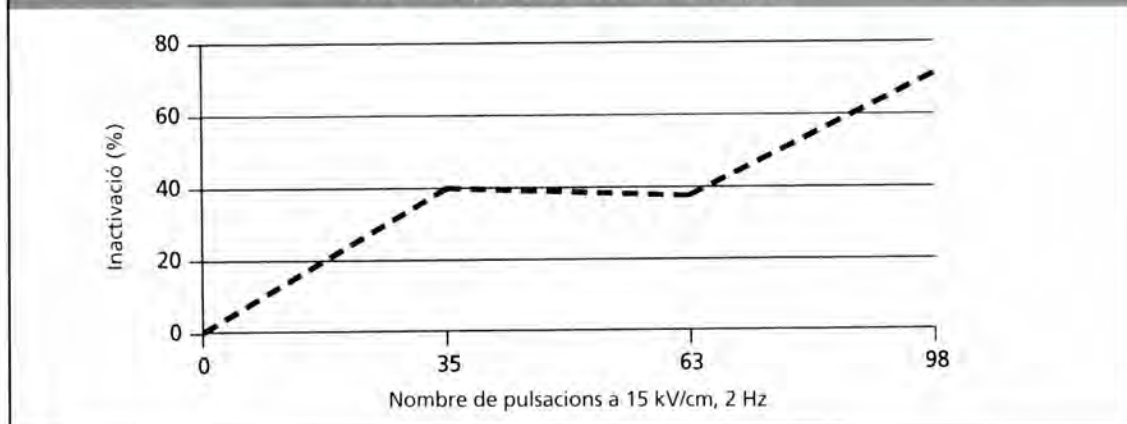
en ou líquid a 37 kV/cm amb pulsacions de caiguda exponencial de 4 µs de durada a una temperatura màxima de 39 °C va donar lloc a una inactivació de 10⁵ quan la concentració inicial fou de 10⁶ ufc/ml (Martín-Belloso [et al.], 1996b). L'aplicació de 30 pulsacions de 2 µs a 30 kV/cm sobre crema de pèsols va reduir la població d'*E. coli* inoculat de 10⁷ ufc/ml a pràcticament 0. En aquest aliment es va reduir la presència de *B. subtilis* en 5 D amb un tractament de 33 kV/cm a 4,3 Hz i una velocitat de flux a través de la cambra de 0,5 ml/min (Vega-Mercado [et al.], 1996b). L'aplicació de 2 pulsacions de 2,5 µs a 50 kV/cm va inactivar 10⁶ ufc/ml de *S. cerevisiae* en suc de poma (Harrison [et al.], 1996).

De tots els estudis anteriors es pot deduir que la inactivació de microorganismes per pulsacions elèctriques és més gran quan aquests es troben en solucions reguladores o solucions model d'aliments que quan el medi és un aliment real a causa de la complexitat de la composició dels aliments.

Sí bé existeix força informació sobre l'efecte de l'aplicació de pulsacions elèctriques d'alta intensitat de camp sobre els microorganismes, les conseqüències de la seva aplicació sobre enzims i d'altres components dels aliments està molt menys estudiada. Tot i així, els resultats que s'han trobat fins ara auguren una gran utilitat d'aquesta tècnica com a mètode no tèrmic, ja que no s'han trobat canvis significatius de la composició centesimal ni de les característiques organolèptiques entre els productes tractats i sense tractar (Grahl [et al.], 1992; Qin [et al.], 1995), en canvi els enzims pateixen diferents graus d'inactivació. La plasmina, enzim proteolític que hi ha a la llet, s'inactiva en un 90 % amb 50 pulsacions de 30 kV/cm a 15 °C (Vega-Mercado [et al.], 1995) i la fosfatasa alcalina s'inactiva en un 65 % després de 7 pulsacions de 22 kV/cm a 22 °C i perd la resistència a l'acció proteolítica de la tripsina (Castro, 1995); tanmateix, Grahl [et al.], 1992 van trobar una inactivació inferior al 20 % amb pulsacions de 21,55 kV/cm a 40 °C. En aquestes condicions, amb l'aplicació de 392 kJ/l, sí que es va inactivar un 70 % de la lipasa. Un altre enzim, una proteasa de *Pseudomonas fluorescens* es va inactivar en un 80 % quan es van aplicar 20 pulsacions a 18 kV/cm i 0,25 Hz a l'enzim suspès en mig de triptona-soia amb extracte de llevat; però quan l'enzim es troba suspès en llet només s'inactiva el 60 % amb 98 pulsacions a 15 kV/cm i 2 Hz (figura 2) (Vega-Mercado [et al.], 1996c).

La inactivació de la població bacteriana depèn de la intensitat de les pulsacions elèctriques i del temps de tractament.

FIGURA 2
Inactivació d'una proteasa de *Pseudomonas fluorescens*
en la llet per pulsacions elèctriques



GENERACIÓ DE PULSACIONS ELÈCTRIQUES D'ALTA INTENSITAT DE CAMP

Els materials alimentaris són conductors elèctrics per la seva alta concentració d'ions i la seva capacitat per transportar càrregues elèctriques. Per tal de poder generar pulsacions elèctriques d'alta intensitat de camp (kV/cm) a través dels aliments ha de passar un gran flux de corrent elèctric mitjançant una cambra de tractament en un interval de temps molt curt (μs) (Martín [et al.], 1994). L'equip per al tractament d'aliments amb pulsacions elèctriques d'alta intensitat de camp consta bàsicament d'una font de generació de pulsacions d'alt voltatge, una cambra de tractament on es col·loca l'aliment i un sistema auxiliar de refredament

de la cambra (figura 3) (Qin [et al.], 1995; Zhang [et al.] 1995a). A la font de generació es converteix energia elèctrica de baix voltatge en alt voltatge i s'acumulen baixos nivells d'energia en un condensador, de manera que es pugui descarregar l'energia acumulada a voltatges alts gairebé instantàniament. El temps entre pulsacions és molt més gran que la durada de les pulsacions, ja

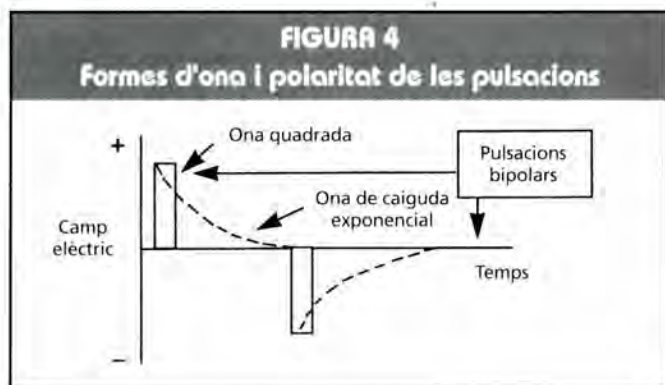
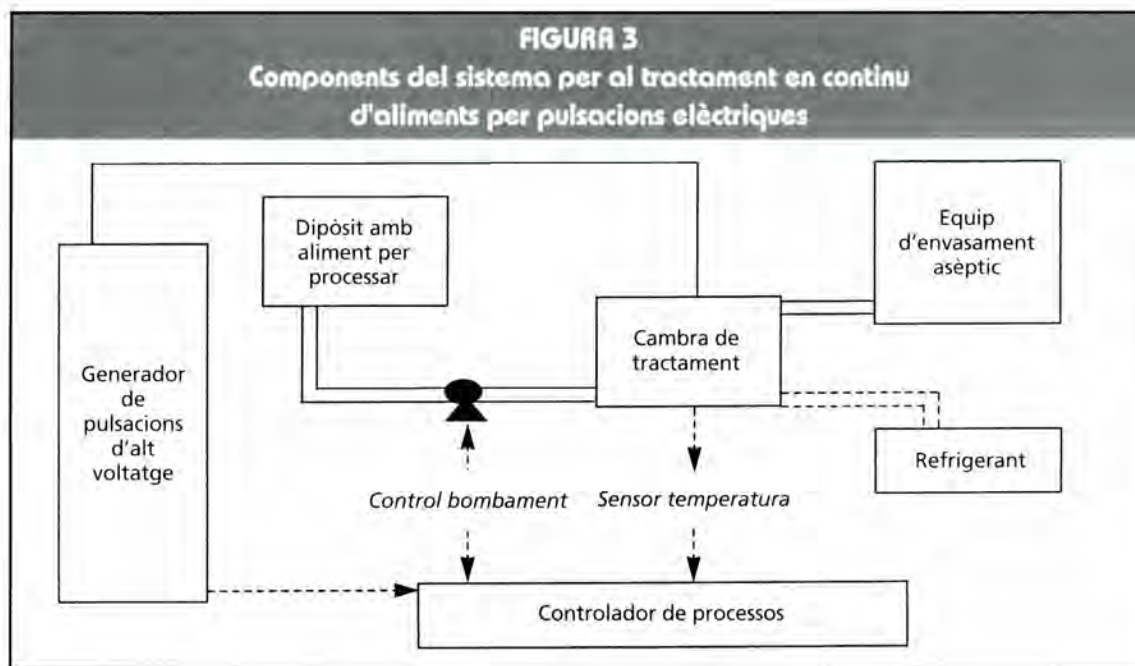
Per tal de poder generar pulsacions elèctriques d'alta intensitat de camp (kV/cm) a través dels aliments ha de passar un gran flux de corrent elèctric mitjançant una cambra de tractament en un interval de temps molt curt (μs).

que les càrregues d'energia són lentes en comparació amb les descàrregues efectuades (Martín [et al.], 1994).

La descàrrega de les pulsacions es pot realitzar amb diferents formes d'ona, tot i que l'ona de caiguda exponencial i la quadrada són les de més gran utilitat (figura 4) (Zhang [et al.] 1995a). En les pulsacions d'ona quadrada es manté el voltatge màxim durant un temps més llarg que en les de caiguda exponencial. Tot i que ambdues formes d'ona inactiven microorganismes, les pulsacions d'ona quadrada estalvien més energia i es refreden amb més facilitat. Tanmateix, les de caiguda exponencial són més fàcils d'obtenir (Bushnell [et al.], 1991; Zhang [et al.] 1995a).

A més a més de la forma de la pulsació, s'ha de considerar el fet que els electròlits, les proteïnes i les cèl·lules vives tenen càrrega elèctrica i poden migrar cap als elèctrodes, la qual cosa provocaria una electròlisi i la formació d'una capa protectora quan s'apliquen pulsacions monopolars (Qin [et al.], 1994a). Aquests fenòmens trenquen la uniformitat del camp elèctric; a la regió de la capa protectora la intensitat de camp elèctric pot ser significativament més alta que a la resta de la cambra. Per evitar que es formi la capa protectora es poden enviar les pulsacions alternant la polaritat dels elèctrodes. Aquesta forma d'aplicació de pulsacions és més cara de generar però minimitza els dipòsits de molècules carregades i les pulsacions són més efectives en la inactivació microbiana (Bushnell [et al.], 1995).

Una cambra de tractament consisteix, bàsicament, en dos elèctrodes subjectats en un material aïllant col·locats de manera que



formin un recinte on es col·loca l'aliment. La funció principal de la cambra de tractament és crear el camp elèctric al seu interior (Martín [et al.], 1994; Zhang [et al.], 1995a). Els elèctrodes poden ser plaques paral·leles, cables paral·lels, cilindres concèntrics i varetes (Hoffman, 1989) col·locats en diferents configuracions per al tractament dels aliments en sistema estàtic o flux continu (Zhang [et al.], 1995a).

Actualment existeixen diversos equips per al tractament d'aliments en laboratori o en planta pilot desenvolupats per diversos grups d'investigació. Foodco Co., una empresa subsidiària de Maxwell Laboratories Inc., San Diego, Califòrnia, EUA, va obtenir diverses patents on es descriuen sistemes i equips per al tractament tant estàtic com en continu d'aliments fluids com ara derivats lactis, suc de fruita i ou líquid per pulsacions elèctriques d'alt voltatge (Dunn i Pearlman, 1987 i 1989; Bushnell [et al.], 1991, 1993 i 1995). També el 1989, Sato i Nakanishi van obtenir una patent en nom de Kirin Brewery

per a un aparell per processar refrescs, begudes alcohòliques, salses, llet i derivats, olis, begudes de cafè, espècies líquides i matèries primeres. En la mateixa dècada que es van desenvolupar els anteriors sistemes, Krupp Maschinentechnik GmbH, Hamburg, Alemanya, van presentar l'ELSTERIL, procés desenvolupat per a la pasteurització de fluids que siguin conductors elèctrics. El desenvolupament d'aquest procés es va realitzar en col·laboració amb la Technical University Hamburg, Hamburg, Alemanya, (Sitzmann, 1995). Al Regne Unit, el 1992, Campden Food and Drink Research Association (CFDRA), Chipping Campden, Gloucester i EA Technology, Capenhurst, van establir un acord per al desenvolupament d'un equip per tractar aliments per pulsacions elèctriques en laboratori amb capacitat d'operació de fins a 20-30 kV/cm. Washington State University, Pullman, Washington, EUA, utilitza un generador de pulsacions d'alt voltatge (40 kV) i alta repetició de pulsació (10 Hz) fabricat per Physics International Co., San Leandro, Califòrnia, EUA, i ha presentat dues patents sobre tractament d'aliments per pulsacions elèctriques en sistema estàtic (Zhang [et al.], 1995b) i en continu (Qin [et al.], 1994b).

A Espanya es treballa en el desenvolupament d'aquesta tecnologia de processament d'aliments al Departament de Tecnologia d'Aliments de la Universitat de Lleida. El grup d'aquesta universitat manté una estreta col·laboració amb el seu homòleg a Washington State University, Pullman, Washington, EUA. Recentment ha adquirit un

generador de pulsacions d'alt voltatge (Physics International Co., San Leandro, Califòrnia, EUA) que permet l'aplicació de pulsacions a 70 kV des d'un condensador de 0,1 μ F en 5 ns.

TRACTAMENT D'ALIMENTS

El tractament d'aliments per pulsacions elèctriques d'alta intensitat de camps en laboratori i planta pilot està donant resultats prometedors que permetran que aviat es pugui transferir a la indústria. Dunn i Pearlman (1987 i 1989) van tractar suc de taronja amb 35 pulsacions de 100 μ s a 18 kV/cm i van allargar la vida útil del producte una setmana més dels tres dies que dura aquest producte fresc; amb tractaments d'intensitats de camp similars es va allargar la vida útil de la llet, el iogurt i l'ou líquid diversos dies més respecte dels aliments frescs.

El sistema de flux continu, disponible a Washington State University, es va utilitzar per al tractament d'aliments de diferents característiques: suc de poma reconstituït a partir de concentrat, suc de poma fresc, llet desnatada, ou líquid i crema de pèsols. En tots els productes es van realitzar estudis microbiològics, físics i de composició centesimal del producte fresc i després de tractat. A més a més, es va realitzar l'anàlisi sensorial dels productes obtinguts i es van comparar amb els seus homòlegs disponibles al mercat. L'estudi es va completar amb l'avaluació de la vida útil dels productes tractats d'aquesta manera. En cap dels productes tractats es van observar diferències significatives en la composició centesimal ni en les característiques físiques abans i després del tractament, excepte en l'ou líquid, que presentava una viscositat menor i un color lleugerament més fosc respecte del fresc. Igualment, l'equip de tastadors no va detectar diferències significatives entre els productes tractats i els sense tractar. A més, quan es van comparar els productes tractats amb pulsacions elèctriques amb els comercials, els jutges van preferir l'ou líquid tractat amb pulsacions i el fresc al comercial i el mateix va passar amb la crema de pèsols. La vida útil de tots aquests productes, segons criteris microbiològics, va superar les 2 setmanes en emmagatzematge a 4-6 °C (Quin [et al.], 1995).

BIBLIOGRAFIA

- BUSHNELL, A. H.; DUNN, J. E.; CLARCK, R. W. (1991). *High pulsed voltage systems for extending the shelf life of pumpable food products*. Patent d'EUA núm. 5.048.404.
- BUSHNELL, A. H. [et al.] (1993). *High pulsed voltage systems for extending the shelf life of pumpable food products*. Patent d'EUA núm. 5.235.905.
- BUSHNELL, A. H. [et al.] (1995). *Prevention of electrochemical and electrophoretic effects in high strength electric field pumpable food product treatment systems*. Patent d'EUA núm. 5.447.733.
- CASTRO, A. J. (1995). *Pulsed electric field modification of milk alkaline phosphatase activity*. PhD Dissertation, Washington State University, Pullman, WA, EUA.
- DUNN, J. E.; PEARLMAN, J. S. (1987). *Methods and apparatus for extending the shelf life of fluid food products*. Patent d'EUA núm. 4.695.472.
- DUNN, J. E.; PEARLMAN, J. S. (1989). *Apparatus for extending the shelf life of fluid food products*. Patent d'EUA núm. 4.838.154.
- FETTERMAN, J. C. (1928). «The electrical conductivity method of processing milk». *Agr. Eng.*, núm. 9, p. 107-108.
- GETCHELL, B. E. (1935). «Electric pasteurization of milk». *Agr. Eng.*, núm. 10, p. 408-410.
- GRAHL, T.; SITZMANN, W.; M^{OR}KL, H. (1992). *Killing of microorganisms in fluid media by high voltage pulses*. 10^a Dechema Biotechnol. Conf. Series 5B, Frankfurt, Alemanya.
- HAMILTON, W. A.; SALE, A. J. H. (1967). «Effect of high electric fields on microorganisms II. Mechanism of action of the lethal effect». *Biochim. Biophys. Acta*, núm. 148, p. 789-800.
- HARRISON, S.; BARBOSA-C-NOVAS, G. V.; SWANSON, B. G. (1996). «*Saccharomyces cerevisiae* structural changes induced by pulsed electric field treatment». *Lebensmit. Wiss. Tech.* [En premsa]
- HOFMANN, G. A. (1989). «Cells in electric fields, physical and practical electronic aspects of electrocell fusion and electroporation». A: NEUMAN, R.; SOWERS, A. E.; JORDAN, C. A. *Electroporation and electrofusion in cell biology*. Nova York: Plenum Press.
- HÜLSHEGER, H.; POTEI, J.; NIEMANN, E. G. (1981). «Killing of bacteria with electric pulses of high field strength». *Radiat. Environ. Biophys.*, núm. 2, p. 53-65.

- HÜLSHEGER, H.; POTEI, J.; NIEMANN, E. G. (1983). «Electric field effects on bacteria and yeast cells». *Radiat. Environ. Biophys.*, núm. 22, p. 149-162.
- JACOB, H. E.; FÖRSTER, W.; BERG, H. (1981). «Microbiological implications of electric field effects». *Z. Allg. Mikrobiol.*, núm. 21, p. 225-233.
- JARAYAM, S.; CASTLE, G. S. P.; MARGARITIS, A. (1992). «Kinetics of sterilization of *Lactobacillus brevis* by the application of high voltages pulses». *Biotechnol. Bioeng.*, núm. 40, p. 1412-1420.
- MARTÍN, O. [et al.] (1994). «Empleo de pulsos eléctricos de alto voltaje para la conservación de alimentos. Microbiología e ingeniería del proceso». *Rev. Española Ciencia Tecnol. Aliment.*, núm. 34, p. 1-34.
- MARTÍN-BELLOSO, O. [et al.] (1996a). *Pulsed electric fields inactivation of Escherichia coli suspended in skim milk*. Annual Meeting of the Institute of Food Technologists, Nueva Orleans, Los Angeles, EUA.
- MARTÍN-BELLOSO, O. [et al.] (1996b). *Effect of high intensity pulsed electric fields on the inactivation of Escherichia coli in liquid egg*. Annual Meeting of the Institute of Food Technologists, Nueva Orleans, LA, EUA.
- MOSES, D. (1928). «Electric pasteurization of milk». *Agr. Eng.*, núm. 19, p. 525-526.
- NEUMANN, E. (1989). «The relaxation hysteresis of membrane electroporation». A: NEUMANN, E.; SOWER, A. E.; JORDAN, C. A. *Electroporation and electrofusion in cell biology*. Nova York: Plenum Press, p. 61-73.
- POTHAKAMURY, U. R. (1995). *Preservation of foods by nonthermal processes*. PhD Dissertation, Washington State University, Pullman, WA, EUA.
- QIN, B. L. [et al.] (1995). «Food pasteurization using high intensity pulsed electric fields». *Food Technol.*, núm. 49 (12), p. 55-60.
- QIN, B. L. [et al.] (1994a). «Inactivation of microorganisms by pulsed electric fields with different waveforms». *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, núm. 1 (6), p. 1047-1057.
- QIN, B. L. [et al.] (1994b). *Continuous flow electrical treatment of flowable food products*. Attorney's Docket núm. WA4-076 filed with US Patent and Trademark Office, desembre.
- SALE, A. J. H.; HAMILTON, W. A. (1967). «Effect of high electric fields on microorganisms I. Killing of bacteria and yeast». *Biochim. Biophys. Acta*, núm. 148, p. 781-788.
- SALE, A. J. H.; HAMILTON, W. A. (1968). «Effect of high electric fields on microorganisms III. Lysis of erythrocytes and protoplasts». *Biochim. Biophys. Acta*, núm. 163, p. 37-43.
- SATO, M.; NAKANISHI, K. (1989). *The sterilization method of beverage*. Patent japonesa núm. 1-95751.
- SATO, [et al.] (1988). «Sterilization of microorganisms by high voltage pulsed discharge under water». *Kagaku Kogaku Ronbunshu*, núm. 4, p. 556-559.
- SITZMANN, W. (1995). «High voltage pulse techniques for food preservation». A: GOULD, G. W. *New Methods in food preservation*. Londres: Blackie Academic & Professional, Regne Unit, p. 236-252.
- VEGA-MERCADO [et al.] (1995). «Plasmin inactivation with pulsed electric fields». *J. Food Sci.*, núm. 60 (5), p. 1143-1146.
- VEGA-MERCADO [et al.] (1996a). «Inactivation of *Escherichia coli* by combining pH, ionic strength and pulsed electric fields». *Food Research Int.* [En premsa]
- VEGA-MERCADO [et al.] (1996b). *Inactivation of Bacillus subtilis and Escherichia coli in pea soup by high intensity pulsed electric fields*. Annual Meeting of the Institute of Food Technologists, Nova Orleans, LA, EUA.
- VEGA-MERCADO [et al.] (1996c). «Inactivation of an extracellular protease from *Pseudomonas fluorescens* M3/6 using pulsed electric fields». *J. Food Sci.* [Acceptada la seva publicació]
- ZHANG, Q. [et al.] (1994a). «Inactivation of *E. coli* for food pasteurization by high-intensity short-duration pulsed electric fields». *J. Food Proc. Preserv.*, núm. 19, p. 103-118.
- ZHANG, Q. [et al.] (1994b). «Inactivation of microorganisms in semisolid foods using high voltage electric fields». *Food Sci. Technol.*, (LWT), núm. 27, p. 538-543.
- ZHANG, Q.; BARBOSA-C-NOVAS, G. V.; SWANSON, B. G. (1995a). «Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization». *J. Food Eng.* núm. 25 (2), p. 261-281.
- ZHANG, Q. [et al.] (1995b). *Batch mode food treatment using pulsed electric fields*. Attorney's Docket núm. WA4-077, filed with US Patent and Trademark Office, març.
- ZIMMERMANN, U.; PILWAT, G.; RIEMANN, F. (1974). «Dielectric breakdown of cell membranes». *Biophys. J.*, núm. 14, p. 881-899.