

고전압 펄스 전기장을 이용한 액상 김치 소스의 살균 및 저장

신정규 · 신해현*

전주대학교 문화관광대학 전통음식전공, *백석문화대학 외식산업학부

Sterilization and Storage of Liquid Kimchi Sauce by High Voltage Pulsed Electric Fields

Jung-Kue Shin and Hae-Hun Shin*

Department of Korean Traditional Food Culture, Jeonju University

*Division of FoodService Industry, Baekseok College of Cultural Studies

Abstract

The objective of this study was to examine the effect of high voltage pulsed electric fields (PEF) treatments on the quality of liquid kimchi sauce. The death rate of microorganism is increased with increasing electric field strength and treatment temperature. The flavor, color and turbidity, pH and acidity of kimchi sauce in PEF treatment at 30°C were not significantly different with electric field strength. The pH of both PEF-treated and untreated liquid kimchi sauce did not change on 4 storage. But, the pH of non-PEF treated kimchi sauce was significantly lower than PEF treated sample. The acidity of kimchi sauce was not significant different between PEF treated and non-PEF treated samples at 4°C storage temperature. However, the acidity of non-PEF treated kimchi sauce double-folded increased at 25°C of storage temperature. The viable cell number increased at the level of one log cycle after 7~10 days for non-PEF treated kimchi sauce, but no change with PEF treated one. Consequently, low temperature stored kimchi sauce after PEF treatment showed the no change of quality during 24 day storage.

Key words : high voltage pulsed electric fields(PEF), liquid kimchi sauce, nonthermal sterilization, storage

서 론

소비자들의 소득 수준이 향상되고 건강에 대한 관심이 크게 증가되면서 시장에 출시되고 있는 많은 가공 식품들은 가능한 가공의 정도를 줄이고 자연지향적인 제품을 개발하여 소비자들의 기호를 만족시키고자 노력하고 있다(Mertens와 Knorr, 1992; Ray, 2004). 과거부터 현재까지도 부식 또는 주식으로 크게 선호되고 있는 라면과 같은 면류 제품도 유당면보다는 기름에 튀기지 않은 생면의 제품이 다양하게 출시되고 있으며, 이에 필요한 소스도 기

존의 분말 스프를 풍미가 좋고 감칠맛이 강화된 액상 스프로 바꾸려는 노력을 하고 있다. 하지만 이러한 액상 스프는 가열처리를 하게 되면 열에 의한 영양 성분의 파괴, 색택의 변화, 고유 향기 성분의 손실 등 품질변화를 피할 수 없으며, 과량의 보존제를 사용할 경우에는 고유의 맛을 잃어버려 기존에 널리 알려진 살균 방법으로는 고유의 맛과 향을 유지하기 힘들다(Barbosa-Canovas, 1994; Palaniappan *et al.*, 1990)

고전압 펄스 전기장 기술(high voltage pulsed electric fields, PEF)은 매우 짧은 시간 동안 수만 volt 이상의 고전압을 미생물 세포에 순간적으로 걸어서 세포막 사이에 일정 이상의 전위차를 유도하여 전하를 띤 분자 사이의 반발력에 의하여 세포막에 pore를 형성하여 비가역적 파괴가 일어나 미생물의 사멸을 일으키는 기술(Pothakamury, 1995;

Corresponding author: Jung-Kue Shin, Assistant Professor, Department of Korean Traditional Food Culture, Jeonju University, Jeonju 560-759, Korea.
Phone: +82-63-220-3081, Fax: +82-2-220-2736
E-mail: sorilove@jj.ac.kr, sorilove@freechal.com

Harrison, 1996; Zimmermann et al, 1974)로서 고전압 펄스 전기장 기술로 식품을 처리하면 온도가 거의 상승하지 않고, 처리시간이 매우 짧으며, 연속 처리가 가능하고 처리 후에도 식품의 물리적, 화학적 및 영양학적 특성들이 거의 변하지 않는다. PEF의 응용 분야는 액체 식품, 즉 과일 및 야채 주스, 유제품, 액체 난제품의 가공 시 미생물의 비열 살균뿐만 아니라(Qin et al, 1996), 식품의 변패와 관련된 효소의 불활성화(Vega et al, 1995; Vega et al, 1997), 과일이나 야채로부터 즙액의 추출(Rogob, 1988), 미생물로부터의 유용성분의 추출 등으로 그 응용범위가 지속적으로 확대될 것으로 기대되고 있다.

본 연구는 고전압 펄스 전기장 살균 기술을 액상 김치 소스에 적용하여 김치 고유의 향이나 맛과 색택을 변화시키지 않는 범위 내에서 적절한 살균을 통하여 저장성을 연장시킬 수 있는 조건을 연구하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

배추, 무우, 파, 생강, 고추, 마늘은 시장에서 실험 당일 구입하여 사용하였다.

사용균주

본 실험에 사용된 균주는 마늘로부터 직접 분리한 2종의 *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc*

*mesenteroides*를 사용하였다.

분리한 균주는 MRS broth (Difco, USA)를 사용하여 25°C에서 24시간 동안 배양하여 약 10⁸ CFU/mL가 되도록 하여 종균으로 사용하였다.

액상 김치 소스의 제조

불가식 부위를 제거한 배추 500 g, 무우 100 g, 고추 30 g, 파 20 g, 마늘 10 g, 생강 1 g을 물로 3회 이상 세척하여 탈수 시킨 후 적당한 크기로 절단하여 녹즙기를 이용하여 착즙한 후 안정제로서 수화검을 0.2%로 첨가하고 착즙액에 미리 배양한 종균을 0.05% 씩 접종하였다. 이렇게 종균과 수화검이 첨가된 액상 김치를 25°C에서 약 60시간 정도 배양하여 pH가 4.0-4.2가 되도록 발효하여 액상 김치 소스를 제조하였다.

고전압 펄스 전기장 장치

고전압 펄스 전기장 처리 장치는 크게 전원 공급부(power supply, Model JP-PS2550, Jaepae Hi-Tec, Incheon, Korea), 펄스 발생기(pulse generator Model JP-PGT50, Jaepae Hi-Tec, Incheon, Korea), 처리용기로 구성되어 있다(Fig 1). 전원 공급부는 200 V의 AC 입력전원을 고전압 변압기를 통하여 승압하고 정류하여 최대 50 kV DC 전원을 발생시킬 수 있도록 하였다. 펄스 발생기는 출력 파형을 square wave pulse로 구성할 수 있는 펄스 발생망(pulse forming network, PFN)과 고전압의 전기를

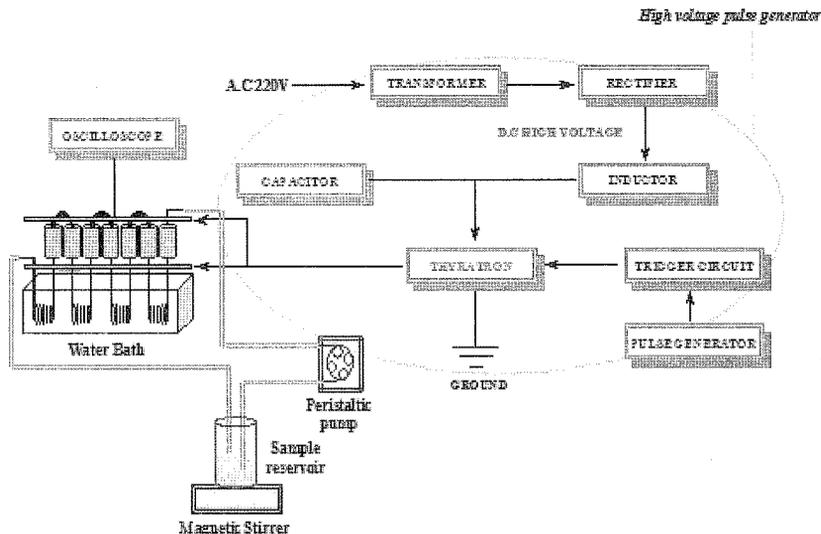


Fig. 1. Schematic diagram of continuous PEF processing system.

순간적으로 발생할 수 있는 스위치로 구성되어 있다. 펄스 발생망은 펄스의 형태와 길이를 조절하는 중요한 부위로서 전원 공급부에서 공급된 전압을 충전 및 rising time을 결정하는 축전지, 펄스의 길이와 falling time을 조절하는 방전 지연 inductor로 구성되어 있다. 고전압 펄스 전기장 처리는 자체 제작한 처리 용기를 사용하여 실시하였다. PEF 처리 용기는 co-field 개념을 도입한 것으로 시료가 전극에 직접 접촉하는 면적을 최소화 하였으며, 불균일한 전기장의 형성을 없애고 시료의 흐름에 edge가 없도록 설계하였으며, 전극 간격 2 mm, 처리 부피 0.025 mL의 아세트알 재질의 용기 7개를 연속으로 연결하여 처리용적이 0.175 mL가 되도록 하였다. 처리 용기에 인가되는 전기장의 세기와 파형은 oscilloscope (Lecroy, 9310 AM, Dual 400 MHz, Switzerland)를 이용하여 측정하였으며, 자체 제작한 probe (100 W)을 이용하여 전압-저항 converting을 하여 전류를 측정하였다.

액상 김치 소스의 고전압 펄스 전기장 처리

최종 발효된 액상 김치 소스 200 mL를 250 mL 용량의 시료 용기에 넣고 밀봉한 다음 peristaltic pump를 사용하여 처리 라인에 순환시키면서 전기장의 세기 10-45 kV/cm에서 펄스폭 1 μ s로 하여 고전압 펄스 전기장 처리 하였으며, 처리시간은 200 μ s로 고정하였다.

시료의 처리시간의 계산은 다음에 의한다. 전체 시료가 처리 라인을 1 cycle하는 동안에 받는 전기장의 처리시간은 식 (1)과 같다.

$$t = n\tau \quad (1)$$

$$n = fV/m \quad (2)$$

여기서 t는 시료가 완전하게 1cycle 되는 동안의 처리시간(s);

τ 는 펄스의 폭(s);

n은 고전압 전기장 펄스의 수;

f는 고전압 전기장 펄스의 주파수(Hz);

V는 처리 용기의 부피(ml);

m은 처리 용액의 유속(ml/s)이다.

따라서 시료가 M cycle 순환되는 동안 받는 고전압 펄스 전기장의 총 처리시간은 식 (3)과 같다.

$$T = Mt \quad (3)$$

액상 김치 소스의 저장 실험

고전압 펄스 전기장 처리한 액상 김치에 121°C에서 15분간 살균한 식염수를 3% 농도가 되도록 첨가하였다. 이렇게 처리한 액상 김치 소스를 4°C와 25°C에 저장하면서 생균수, pH, 산도를 측정하였다.

총균수의 측정

고전압 펄스 전기장 처리 전후의 생균수를 MRS broth를 이용하여 pour plating method로 plate를 만든 후, 25에서 24시간 배양하고 생성된 균락수를 측정하여 CFU/mL로 나타내었다. 고전압 펄스 전기장 처리에 따른 균체의 생존율은 초기 균체수 (N_0)와 PEF 처리후의 균체수 (N)의 비로 생존율(S)을 나타내었다. 이 때 평판 내의 균체수는 30~300개 이내로 나오도록 희석하였으며 각 희석배수에서 3개의 평판 배양을 하여 그 평균값을 생균수로 하였다.

pH

pH는 pH meter (model 520 A, Orion, USA)로 상온에서 세 번 반복 측정하여 평균치를 구하였다.

산도

액상 김치 소스의 적정 산도는 시료 5 mL에 두 배의 증류수를 가한 후 0.1 N NaOH로 pH가 8.2가 될 때까지 적정하여 가해진 NaOH의 양을 젯산 %로 나타내었다.

결과 및 고찰

전기장의 세기와 처리온도의 영향

고전압 펄스 전기장 처리시 전기장의 세기는 미생물의 불활성화와 밀접한 관계를 가지고 있다. 미생물 세포의 세포막 전위차는 인가되는 전기장의 세기가 커짐에 따라서 비례하여 증가하는 것으로 알려져 있다(Hulsheger과 Niemann, 1980; Hulsheger et al, 1981).

본 실험에 사용된 액상 김치 소스는 대부분 *Leuconostoc citreum*과 *Lactobacillus mesenteroides*를 사용하여 제조되었다. 이 균주들의 임계 전기장의 세기는 약 20 kV/cm 내외로 보고 되고 있다(Jayaram et al, 1992; Jayaram et al, 1993; Vega-Mercado et al, 1996). 즉 *Lactobacillus* 속이나 *Leuconostoc* 속의 균주들은 20 kV/cm 이상의 전기장 세기를 인가해야만 사멸시킬 수 있다는 것으로, 본 실험에서는 보고된 전기장의 세기를 임계 전기

장 세기보다 낮은 전기장 세기인 10 kV/cm에서 실험 조건상 최대 인가 가능한 전기장 세기인 45 kV/cm까지 변화시키면서 전기장의 세기에 따른 미생물의 사멸 정도를 측정하여 Fig. 2에 나타내었다.

고전압 펄스 전기장을 처리하기 전의 액상 김치 소스의 초기 균수는 소스의 숙성 정도에 따라 약간씩의 차이는 있었으나 1.4×10^7 CFU/mL ~ 1.26×10^{10} CFU/mL 범위로 나타났으며 평균적으로 5×10^8 CFU/mL이었다. Fig 2에서 보듯이 미생물의 생존율은 전기장의 세기가 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타냈으며, 특히 온도가 증가함에 따라 그 생존율이 크게 감소하는 경향을 보이고 있다. PEF 처리에 있어서 전기장의 세기는 가열 살균에서의 온도와 같은 변수로 생각할 수 있다. 즉, 가열살균에 온도가 증가함에 따라 사멸율이 증가하는 것과 마찬가지로 PEF 처리에서는 전기장의 세기가 증가함에 따라 사멸율이 증가한다(Jayaram *et al.*, 1992). 또한 고전압 펄스 전기장 처리에 있어서 전기장의 세기와 함께 미생물의 사멸율에 크게 영향을 미치는 것은 처리 온도이다. 고전압 펄스 전기장 처리시 일정 온도를 병합하여 처리하게 되면 사멸 효과는 크게 증가하는 것으로 보고되고 있다(Qin *et al.*, 1996; Vega-Mercado *et al.*, 1996). 고전압 펄스 전기장 처리시 처리 온도가 크게 영향을 미치는 이유는 미생물의 세포벽의 유연성과 밀접한 관계가 있다. 미생물은 낮은 온도에서는 세포벽 또는 세포막이 견고한 구

조로 촘촘하게 압축된 형태를 갖게 되며, 온도가 높아지면 세포막의 유동성이 증가해서 세포막이 잘 수축되어 고전압 펄스에 의한 세포막의 파손이 쉽게 일어나게 되고(Jayaram *et al.*, 1992; Zimmermann, 1986), 이에 의해 사멸 효과는 더욱 상승하게 된다. 본 실험에서도 Fig. 2에서 보는 바와 같이 같은 전기장의 세기에서 처리 온도가 증가함에 따라 사멸 효과가 증가되는 것을 볼 수 있으며, 이러한 온도에 따른 사멸율은 직선적으로 증가하는 것을 알 수 있다(Fig. 3).

PEF 처리 후 액상 김치 소스의 변화

처리 온도 30~50, 전기장 세기 10~40 kV/cm의 범위에서 PEF 처리한 후 액상 김치 소스의 품질 변화를 살펴보았다. 30의 온도에서 처리한 시료의 경우에는 전기장의 세기와 관계없이 향미나 색택에 있어서 큰 변화가 없었다. 그러나 50, 40 kV/cm에서 처리한 시료의 경우 향미에는 큰 변화가 없었으나 색택에 있어서는 처리 전의 시료는 L, a, b 값이 각각 11.33, 22.06, 20.68이었으며, 처리 후의 시료는 L, a, b 값이 10.67, 21.33, 21.07로서 처리 전의 시료가 처리 후의 시료에 비하여 명도와 적색도에 있어서 약간 높은 값을 나타내었다. 또한 색택의 변화 이외에 부유물의 침강 정도도 차이를 보였다. 액상 김치 소스 내에는 배추나 마늘 등을 마쇄한 부유물과 유기산 등이 다량 포함되어 있다. 액상 김

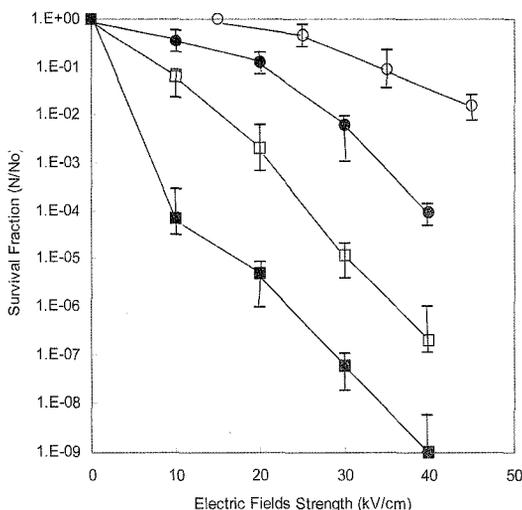


Fig. 2. Inactivation of microorganisms in liquid kimchi sauce by as a function of treatment temperature by high voltage pulsed electric fields treatment. ■ 50°C, □ 45°C, ● 40°C, ○ 35°C.

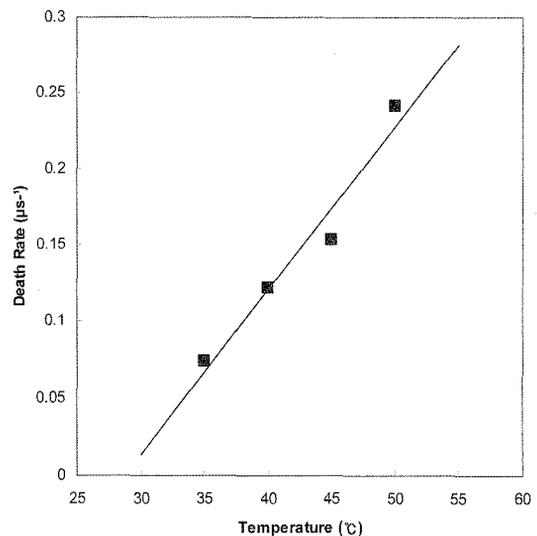


Fig. 3. Dependence of PEF death rate of microorganisms in liquid kimchi sauce on treatment temperature.

Table 1. Effect of high voltage pulsed electric field treatment on pH of liquid kimchi sauce.

E (kV/cm)	Temp. (°C)				
	untreated	35	40	45	50
10	4.28	4.29	4.30	4.31	4.30
20	4.28	4.30	4.31	4.31	4.31
30	4.28	4.31	4.32	4.33	4.33
40	4.28	4.32	4.33	4.34	4.35

치를 만들고 발효를 끝낸 후 일정 시간이 지나면 액상 김치내의 층의 분리가 일어나게 된다. 그러나 PEF 처리한 후의 액상 김치 스프에서는 이러한 층 분리 현상이 크게 감소하였다. 액상 김치 소스의 산도는 PEF 처리 전이나 처리 후 크게 변화가 없었으나 처리한 전기장의 세기가 증가함에 따라 산도가 약간씩 감소하는 경향을 보였으며, pH는 전기장의 세기와 온도가 증가함에 따라 약간씩 증가하는 경향을 보였다(Table 1). 액상 김치 소스를 고전압 펄스 전기장 처리 할 때 pH가 증가하는 이유는 정확하지는 않지만 고전압 펄스 전기장에 의해 소스 내에 있는 세포의 세포막이 파괴되면서 세포내 물질들이 외부로 유출되면서 pH의 상승을 일으키는 것으로 추측된다(신정규, 2002)

액상 김치 소스의 저장

고전압 펄스 전기장 처리 (40 kV/cm, 200 ms)한 액상 김치 소스를 저온(4°C)과 상온(25°C)에서 저장하면서 생균수, 산도 및 pH의 변화를 관찰하였다.

1) pH

액상 김치 소스의 저장 중 pH 변화는 Fig. 4에 나타낸 것과 같이 4°C에 저장했을 때 저장 기간 동안에 PEF 처리한 시료, 처리하지 않은 시료 모두 거의 일정한 pH를 유지하였지만 무처리 시료의 경우 초기에 약간의 감소를 보였다. 이것은 저장 초기에 무처리 시료에 함유되어 있는 효소나 미생물 등의 작용으로 유기산이 생성되었기 때문으로 생각된다. 25°C에서 저장했을 때에는 Fig. 5에서 나타낸 것과 같이 두 시료 모두 pH가 낮아지는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 무처리 시료의 경우 pH의 감소가 급격히 이루어지는 반면에 PEF 처리한 시료는 그 속도가 상대적으로 완만하였다.

2) 산도

온도 4°C에서 처리 시료와 무처리 시료의 산도의

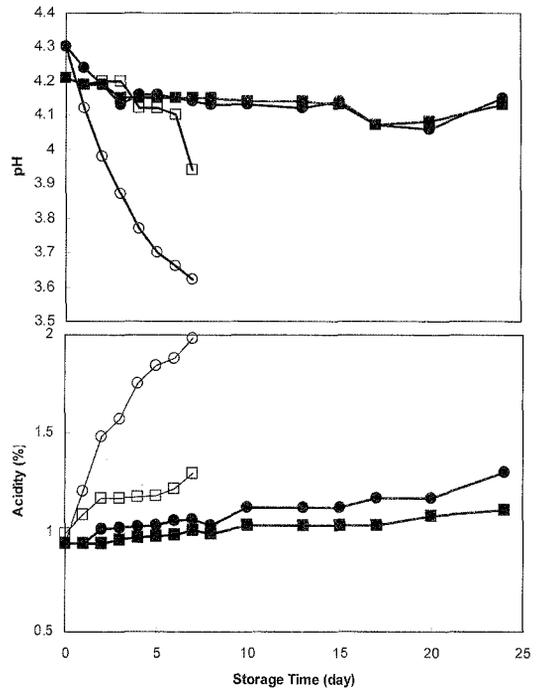


Fig. 4. Change in pH and acidity of untreated and PEF-treated liquid kimchi sauce during storage at 4°C and 25°C. ■ : 4°C PEF treatment, □ : 25°C PEF treatment, ● : 4°C non-treatment, ○ : 25°C non-treatment.

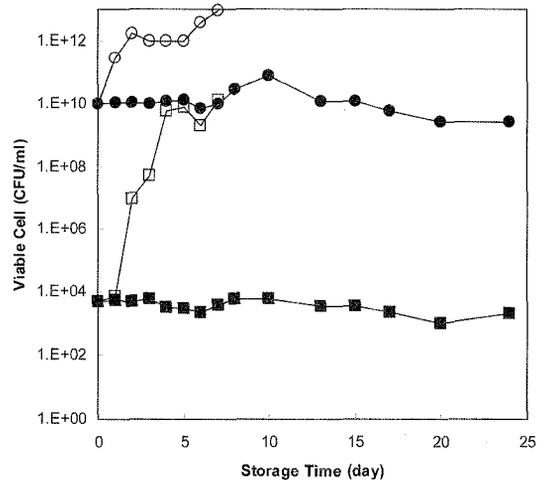


Fig. 5. Change in viable cell of untreated and PEF-treated liquid kimchi sauce during storage at 4°C and 25°C. ■ : 4°C PEF treatment, □ : 25°C PEF treatment, ● : 4°C non-treatment, ○ : 25°C non-treatment.

변화를 관찰한 결과는 Fig. 5와 같다. pH의 변화에서와 비슷한 결과로 저온 저장하였을 경우에는 산

도의 변화가 거의 없었다. 상온인 25°C에서 저장했을 때는 PEF 처리한 시료의 경우에 약간의 산도의 증가는 있었으나 품질에 영향을 줄 정도는 아니었다. 반면에 무처리 시료의 경우에는 7일만에 2배의 산도 증가를 보였으며 산취를 나타내었다. 정태범(1999)이나 하구용(1999)은 탁주와 당근 주스를 같은 조건에서 실험하여 30°C와 25°C에 저장했을 때에는 각각 8일, 12일 후부터 산도가 증가하였으나, 4°C에서 저장했을 때는 변화가 없는 것으로 보고하였다.

3) 생균수

저장 중 생균수의 변화를 살펴보면 PEF 처리를 하지 않은 시료를 4°C에 저장했을 때 Fig. 6에 나타난 것과 같이 저장 7-10일 사이에 약간의 증가를 보여 약 1 log 정도의 균수 증가가 있었으나 큰 변화를 보이지는 않았으며, PEF 처리 시료의 경우에는 거의 생균수의 변화를 나타내지 않았다. 그러나 25°C에서 저장한 시료의 경우에는 무처리한 시료나 PEF 처리한 시료 모두 저장 다음 날부터 빠르게 생균수가 증가하여 저장 1주일 후에는 이취가 발생하여 소스로서의 품질을 유지하지 못하였다.

요 약

고전압 펄스 전기장 살균 기술(high voltage pulsed electric fields, PEF)을 액상 김치 소스에 적용하여 김치 고유의 향이나 맛과 색택을 변화시키지 않는 범위 내에서 적절한 살균을 통하여 저장성을 연장시킬 수 있는 조건을 연구하고자 하였다. 액상 김치 소스를 PEF 처리한 결과 전기장의 세기가 증가함에 따라 미생물의 사멸속도가 점차 증가하였고, 전체적인 균체 사멸율이 현저하게 증가하였다. 또한 처리 온도가 증가함에 따라 미생물의 사멸속도는 직선적으로 증가하였다. PEF 처리 후 액상 김치 소스는 30°C의 온도에서 처리한 경우에는 전기장의 세기에 관계없이 향이나 색택의 큰 변화가 없었다. 그러나 50°C, 40 kV/cm에서 처리한 경우에는 색택에서 약간의 변화와 부유물이 침강되었다. 또한 pH와 산도는 큰 변화를 보이지 않았다. 40 kV/cm, 200 ms로 PEF 처리한 액상 김치 소스를 4°C에서 저장했을 때는 PEF처리한 시료, 무처리 시료 모두 일정한 pH를 보이고 있으나, 25°C에 저장한 경우에는 무처리 시료의 pH감소 속도가 PEF 처리시료에 비하여 급격히 이루어졌다. 또한 산도의 경우에는

저온에서는 큰 차이가 없었으나 25°C 저장시에는 PEF 처리 시료는 약간의 산도증가만 보였으나, 무처리 시료는 7일만에 2배로 증가하였다. 저장 중 생균수는 4°C에서는 무처리 시료는 저장 7~10일에 약 1 log의 균수 증가를 보인 반면에 PEF 처리 시료는 생균수의 변화를 보이지 않았다. 결론적으로 PEF 처리한 한 후 저온에서 저장함으로써 액상 김치 소스의 품질변화를 보이지 않는 것으로 판단되었다.

참고문헌

- 신정규, 2002, 고전압 펄스 전기장에 의한 *Saccharomyces cerevisiae*의 불활성화 연구, 박사학위논문, 연세대
- 정태범, 1999, 고전압 펄스 전기장에 의한 탁주의 살균, 석사학위논문, 연세대
- 하구용, 1999, 고전압 펄스 전기장에 의한 당근 주스의 살균, 석사학위논문, 연세대학교
- Barbosa-Canovas, GV., 1994, New technologies for the preservation of foods. First International Congress Biochemical Engineering, Mexico City, Mexico
- Harrison, SL., 1996, High intensity pulsed electric field and high hydrostatic pressure processing of apple juice. Ph.D. Thesis, Washington State University, USA
- Hulshager, H and Niemann, EG, 1980, Lethal effects of high-voltage pulses on *E. coli* K12, *Radiat. Environ. Biophys.* **18**: 281-288.
- Hulshager, H, Potel, J and Niemann, EG, 1981, Killing of bacteria with electric pulses of high field strength, *Radiat. Environ. Biophys.* **20**: 53-65.
- Jayaram, S., Castle, GSP and Margaritis, A., 1992, Kinetics of sterilization of *Lactobacillus brevis* cells by the application of high voltage pulses. *Biotech. Bioeng.* **40**: 1412-1420.
- Jayaram, S., Castle, GSP and Margaritis, A., 1992, The effects of high field DC pulse and liquid medium conductivity on survivability of *Lactobacillus brevis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **40**: 117-122.
- Mertens, B. and Knorr, D., 1992, Development of nonthermal processes for food preservation. *Food Technol.*, **46(5)**: 124.
- Palaniappan, S., Sastry, SK. and Richter, ER., 1990, Effects of electricity on microorganisms: A review. *J. Food Process Preservation.* **14**: 393-414.
- Pothakamury, UR., 1995, Preservation of foods by nonthermal processes. Ph.D. Thesis, Washington State University, USA
- Qin, BL, Pothakamury, UR, Barbosa-Canovas, GV and Swanson, BG., 1996, Nonthermal pasteurization of liquid foods using high intensity pulsed electric fields. *Critical Review Food Science and Nutrition*, **36(6)**: 603-627.
- Ray, B., 2004, Control by new nonthermal methods. In

- Fundamental food microbiology. B. Ray (eds), pp.441. CRC Press, New York
- Rogob, EA., 1988, Electropasmolysis. In : Electrical and physical process of Food, Agriculture Production, Moscow, pp. 86
- Vega, H, Powers, JR, Barbosa-Canovas, GV and Swanson, BG, 1995, Plasmin inactivation with pulsed electric fields. *J. Food Science*, **60**: 1143-1148.
- Vega, H, Powers, JR, Martin-Belloso, O, Leudecke, L, Barbosa-Canovas, GV and Swanson, BG, 1997, Effect of pulsed electric fields on the susceptibility of proteins to proteolysis and the inactivation of an extra cellular protease from *Pseudomonas fluorescens* M3/6V. *Int. Conference of Food Engineering 7*
- Vega-Mercado, H, Pothakamury, UR, Chang, FJ, Barbosa-Canovas, GV and Swanson, BG., 1996, Inactivation of *Escherichia coli* by combining pH, ionic strength and pulsed electric fields hurdles. *Food Research International*. **29(2)**: 117-121.
- Zimmermann, U., Pilwat, G. and Riemann, F., 1974, Dielectric breakdown of cell membranes. *Biophysics Journal*, **14**: 881.
- Zimmermann, U., 1986, Electrical breakdown, electroporation and electrofusion. *Review Physiology Biochemistry Pharmacology*. **105**: 176-250.