

**UAB**

**Universitat Autònoma de Barcelona**

**Efecte de les altes pressions hidrostàtiques  
sobre *Listeria monocytogenes* present en aliments llestos pel consum**

**Treball de Fi de Grau**

David Navarrete Motilla (NIU:1270911)

Grau en Ciència i Tecnologia dels Aliments

<b>1. Introducció</b> .....	3
<b>1.1. Tecnologia</b> .....	3
<b>1.2. Efecte de les altes pressions</b> .....	3
<b>1.3. <i>Listeria monocytogenes</i></b> .....	4
<b>2. Letalitat de les HPP sobre <i>Listeria monocytogenes</i> en diferents productes RTE</b> .....	5
<b>2.1. Productes carnis</b> .....	5
<b>2.2. Productes de la pesca</b> .....	6
<b>2.3. Productes lactis</b> .....	6
<b>3. Diferències en la barotolerància de <i>Listeria monocytogenes</i></b> .....	8
<b>4. Aplicació de les HPP al món</b> .....	9
<b>4.1. Aliments en que s'aplica</b> .....	9
<b>4.2. Costos</b> .....	9
<b>4.3. Aplicació industrial</b> .....	10
<b>5. Conclusions</b> .....	10
<b>6. Bibliografia</b> .....	11

Paraules Clau: High hydrostatic pressure (HHP), High Pressure Processing (HPP), *Listeria monocytogenes*, aliments llestos pel consum o *ready to eat* (RTE), barorèsistència, bioconservació.

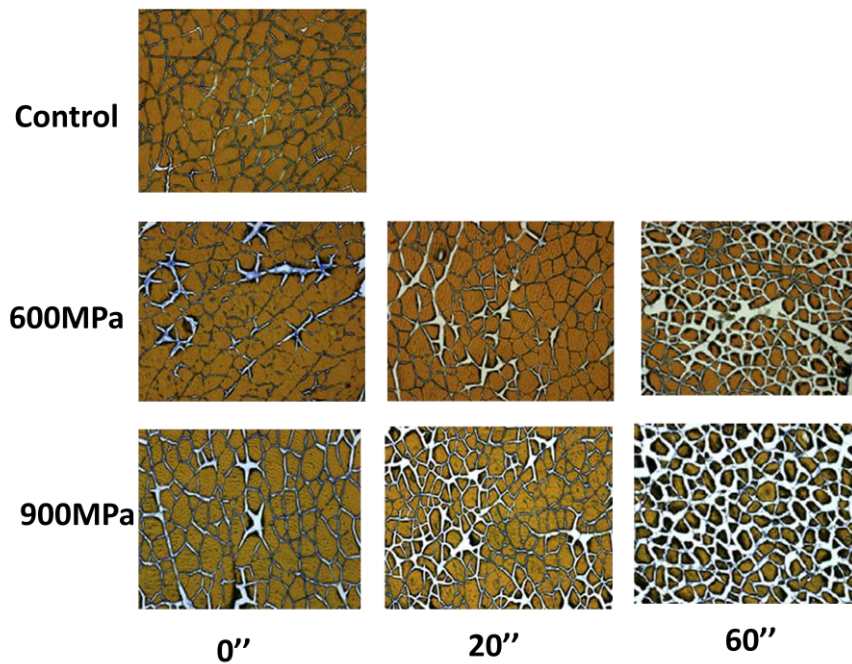
## 1. Introducció

**1.1. Tecnologia.** El tractament amb altes pressions és conegut indistintament com HPP, acrònim de *Hygh Pressure Processing*, o HHP, acrònim de *Hygh Hydrostatic Pressure*. És un mètode de processament basat en l'aplicació d'energia mecànica a un fluid, el qual comprimeix l'aliment de forma isostàtica per tal d'exercir pressions de fins a 900 MPa ( $\approx 9000$  atm) (Sun, 2006) amb l'objectiu principal de reduir la càrrega microbiana d'aquest aliment. El fluid transmissor de la pressió sol ser aigua, que envolta l'aliment sòlid, mentre que en el cas d'aliments líquids pot ser el mateix aliment el que actua de fluid transmissor de la pressió.

A diferència dels tractaments tèrmics les altes pressions (i) no impliquen *per se* un augment de temperatura, tot i que es donen augments d'uns  $3^{\circ}\text{C}$  per cada 100MPa d'augment segons la composició de l'aliment, pel que no es produeixen els canvis que del tractament tèrmic se'n deriven; i (ii) la pressió s'aplica de forma isostàtica, el que implica que tot l'aliment rep el mateix tractament independentment del volum i la forma (Sun, 2006).

A nivell operacional, les altes pressions es poden aplicar en semicontinu en cas d'aliments líquids o en discontinu en el cas d'aliments sòlids, que hauran de ser tractats en envasos que puguin patir deformacions de fins el 15% del seu volum retornat a la seva forma original després del tractament (Sun, 2006).

**1.2. Efecte de les altes pressions.** A nivell molecular es veuen afectats els ponts d'hidrogen i les interaccions hidrofòbiques sense afectar els enllaços covalents, el que implica que segons la intensitat del tractament les proteïnes poden arribar a perdre la seva estructura secundària amb la consegüent pèrdua de funcionalitat d'enzims i transportadors vitals pels bacteris, i es produeix una cristal·lització dels fosfolípids de la membrana, desembocant en un augment de la permeabilitat de la membrana i ajudant a lesionar letal o subletalment les bactèries, la qual cosa facilita la inactivació o l'allargament de la fase lag de les bactèries quan es combina amb altres tractaments. Per contra, molècules més simples associades a característiques organolèptiques i nutricionals com aromes, pigments i vitamines es veuen mínimament afectats, tot i que augmenta lleugerament la susceptibilitat dels greixos a ser oxidats (a partir dels 200-400MPa) sense que canviï el perfil d'àcids grassos (McArdle *et al.* 2010), i a nivell macromolecular es produeixen canvis de textura (més ferma) i color (augment lluminositat -  $L^*$ - i color groc/blau - $b^*$ -), evident en carns vermelles, degut al desplaçament o oxidació del grup hemo, i gairebé imperceptible en carn magre i peix (Sun, 2006). Pel que fa el grau d'afectació organolèptica Gudbjornsdottir *et al.* (2010) van observar que, en salmó, la textura es veia més afectada pel temps d'aplicació de les HPP que per la pressió aplicada, com es pot veure a la (fig1).



**Fig1.** Afectació de la textura d'un salmó fumat segons el tractament HPP aplicat.

Adaptada de Gudbjornsdottir et al. (2010).

**1.3. *Listeria monocytogenes*.** És un bacil gram positiu, mòbil, anaerobi facultatiu, psicròfil, que pot créixer en un ampli rang de pH (4,4-9,4) i  $A_w \geq 0,92$ , que és bastant halotolerant (pot créixer a concentracions de sal de entre 14-15% i sobreviure a concentracions superiors al 30%) i relativament barotolerant tot i no ser esporulat. És de vital importància en aliments RTE (*Ready To Eat*), ja que és un bacteri patògen molt ubic i que pot contaminar especialment productes processats després del tractament tèrmic, en que la competència microbiana és gairebé nul·la (sobretot si es conserva en refrigeració), o productes altament processats sense tractament tèrmic posterior. A aquest fet, es pot sumar que la refrigeració en els frigorífics domèstics a Europa sol trobar-se majoritàriament (percentil 95%) a 6,9°C (FAO/OMS, 2004), mentre que l'aturada de la multiplicació de *Listeria monocytogenes* es dona a temperatures inferiors a +1°C (Marcos et al, 2008).

La perillositat de *Listeria monocytogenes* es plasma en dades com les proporcionades per la EFSA (2014), segons les quals l'any 2012 va ser el patògen d'origen alimentari amb un ràtio d'hospitalització (91,6%) i mortalitat (17%) més elevada a la UE, i que va causar la mort de més persones a la UE (198) que la suma de totes les altres bacteries patògenes d'origen alimentari, sumant *Campilobacter* (31), *Salmonella* (61) i *E. coli* verotoxigènic (12). La listeriosi, malaltia causada per *Listeria monocytogenes*, és cursada majoritàriament per neonats, ancians i persones immunològicament deprimides, i tot i que a la UE el rati de notificació per cada 100.000 habitants és baix (0,41) en comparació amb els altres microorganismes en els últims anys han anat augmentant (EFSA, 2014), sent d'especial preocupació en salmó fumat i marinat, productes carnis i formatges de pasta tova (taula 1).

**Taula 1.** Percentatge de mostres amb presència i recomptes per sobre dels límits legals de *Listeria monocytogenes* en RTE al final de la vida útil, 2010-2011 (EFSA, 2013).

Tipus RTE	Presència (%)	Recompte > 100ufc/g <sup>a</sup> (%)
Salmó fumat i marinat	10,3	1,7
Productes carnis	2,07	0,43
Formatges de pasta blanda	0,4	0,06

<sup>a</sup>Límit al final de la vida útil, s'engons el Reglament (CE) 2073/2005.

## 2. Letalitat de les HPP sobre *Listeria monocytogenes* en diferents productes RTE.

**2.1. Productes carnis.** Partint de la base que a +1°C es considera que *Listeria monocytogenes* es troba en estat de latència durant llargs períodes temps, de fins a 40 dies, i que a 6°C el creixement és molt ràpid des del primer dia, Marcos *et al.* (2008) van observar que aplicant HPP (400MPa; 10min.) a pernil cuit es podia allargar la fase de latència fins a 20 dies a 6°C, que en combinació amb enterocines la fase de latència es mantenia fins que es produïa una ruptura en la cadena de fred (24 hores a temperatura ambient) i que aplicant una combinació de lactat potàssic i diacetat sòdic la fase de latència es mantenia fins i tot després de la ruptura de la cadena de fred, tot i que l'addició del lactat no tenia un efecte sinèrgic en la reducció logarítmica durant el tractament amb HPP, fet també observat per Patterson *et al.*, (2011). Aquests efectes sinèrgics durant i després del tractament HPP s'han observat també quan hi havia una inoculació prèvia de *Weissella viridescens*, que uneix el seu efecte antilistèric a la seva capacitat de sobreviure al tractament HPP, amb la qual cosa s'allarga la fase lag de *Listeria monocytogenes* en 35 dies (Patterson *et al.*, 2011). D'igual forma, en salsitxes tipus Viena, que són cuites, curades i envasades, Chung *et al.* (2010) van observar reduccions logarítmiques de més de 5log ufc/g en les soques més baroresistents, quan es combinaven les HPP (500MPa;1min.) amb una inoculació prèvia de *Lactobacillus casei*, mentre que els tractaments per separat significaven reduccions per sota dels 3log ufc/g. Aquests dos tractaments amb microorganismes inoculats són exemples de biopreservació units a tractaments HPP, com també ho són les enterocines, tractades anteriorment, o la nisina, la inoculació de la qual pot causar en reduccions de fins a 7log ufc/g en pernil sec curat tractat a 600MPa durant 5min (Hereu *et al.*, 2012a), o la combinació de HPP amb olis essencials, com els de *Citrus reticulata* o *Thymus algeriensis*, o els seus components purs, com (+)-limoneno o el carvacol, que produeixen reduccions superiors a 5log en combinació amb HPP, i produeixen reduccions addicionals després del tractament de 3 log en emmagatzemament a 4°C (Espina *et al.*, 2013).

Pel que fa l'estudi en que més s'ha allargat la vida útil d'un producte, Jofré *et al.* (2009) van observar en diferents productes RTE carnis una prolongació de la vida útil de 120 dies amb el producte refrigerat a 4°C després del tractament HPP a 600MPa durant 6min. prèvia inoculació i inactivació de 3,5log ufc/g de *Listeria monocytogenes*, resultats que es van repetir amb la inoculació d'altres microorganismes patògens no esporulats i alteradors, tot i que aquests resultats segurament també haurien estat satisfactoris amb majors nivells de contaminació, com en els estudis que van dur a terme posteriorment (Jofré *et al.*, 2010), a on van aconseguir reduccions de 8.9log ufc/g aplicant 400MPa durant 5min., tot i que *Listeria monocytogenes* es recuperava a temperatures d'abús (14 i 22°C) fins arribar a recomptes de 2log ufc/g, la qual cosa s'evitava augmentant la pressió fins a 900MPa. En els productes RTE carnis de més risc, com el carpaccio de pollastre, es poden aconseguir reduccions de 4,8log

ufc/g aplicant 400MPa durant 10min. i allargaments de la vida útil de 7 dies (Bravo *et al.*, 2014).

Altres estudis mostren com la combinació d'altres pressions aplicant 400MPa durant 20min. amb nisina redueixen significativament els recomptes de *Listeria monocytogenes* en forma de biofilm, de 3 reduccions logarítmiques ufc/g sense nisina a 6 amb nisina, dificultant en aquest últim cas la seva posterior recuperació, resultats similars als observats al baixar el pH a 5, en que tant amb nisina com sense les reduccions sobrepassaven les 6log ufc/g (Gou *et al.*, 2011).

**2.2. Productes de la pesca.** Com en el cas dels productes carnis la inoculació de bacteris àcid-lactis (BAL) pot augmentar la seguretat dels productes fermentats i disminuir el temps de maduració necessari abans de treure al mercat, ja que com van observar Stollewerk *et al.* (2014) les altes pressions aplicades a 600MPa durant 5min. inhibeixen inòculs inicials de 150ufc/g, sense inhibir completament els BAL, amb el que es redueixen els 27 dies de maduració habituals necessaris per inhibir *Listeria monocytogenes* en salsitxes de peix fermentades. També les concentracions de sal entre 1-3% semblen ser una barrera addicional en productes de la pesca, com mostren Basaran-Akgul *et al.* (2010), que van observar reduccions de més de 8log ufc/g en aquestes concentracions de sal, sempre que s'apliquessin tractaments per sobre dels 517MPa durant 5min., en comparació a les 4log en mostres sense sal.

Altres tractaments innovadors en peix els van aplicar Ritz *et al.* (2008), que van aprofitar el descens del punt de congelació en aplicar altes pressions per evitar que el tractament malmetés en excés l'estructura del producte, aconseguint reduccions de 4,89 a pH neutre i 8,9log a pH4,5, en aplicar 200MPa a -18°C, pressió a la qual l'aigua continua essent líquida.

**2.3. Productes lactis.** Arriagada (2013) va observar que l'aplicació de 500MPa durant 5min. al formatge fresc augmenta la vida útil fins a 21 dies en refrigeració (en comparació amb els 7-8 dies d'un formatge fresc sense tractar) i que tot i que es produeixen canvis significatius en el color (més groc) i la textura (més ferm) no va afectar a la preferència dels integrants dels panells de catadors, resultats que en formatges madurats durant poc temps poden ser útils, com van observar Linton *et al.* (2008), que van tractar llet crua destinada a la fabricació de formatge Camembert a 500MPa durant 10min. obtenint resultats satisfactoris microbiològicament i organolèptica.

**Taula 2.** Reduccions de *Listeria monocytogenes* en diferents productes RTE segons el tractament HPP i amb combinació d'altres tractaments barrera

Aliment	Pressió (MPa)	Temps (min.)	Temperatura (°C)	Reduccions log (ufc/g)	Combinació tractaments	Allargament vida útil o fase lag (dies)	Font
Pernil cuït	400	10	17	2,5-3,4		20 (6°C) <sup>c</sup>	(Marcos <i>et al.</i> , 2008)
Pernil cuït	400	10	17	2,5-3,4	Enterocines	40 (6°C) <sup>c</sup>	(Marcos <i>et al.</i> , 2008)
Pernil cuït	400	10	17	2,5-3,4	Lactat+diacetat <sup>b</sup>	60 (6°C) <sup>c</sup>	(Marcos <i>et al.</i> , 2008)
Pernil cuït	600	6	31	3,5 <sup>d</sup>		>120 (4°C) <sup>bc</sup>	(Jofré <i>et al.</i> , 2009)
Pernil sec curat	600	6	31	3,5 <sup>d</sup>		>120 (4°C) <sup>bc</sup>	(Jofré <i>et al.</i> , 2009)
Pernil sec curat	600	5	15	7	Nisina	>60 (8°C) <sup>b</sup>	(Hereu <i>et al.</i> , 2012a)
Pernil sec curat (4% sal)	750	5	21	5,27			(Bover-Cid <i>et al.</i> , 2011)
Llom de vedella marinada	600	6	31	3,5 <sup>d</sup>		>120 (4°C) <sup>bc</sup>	(Jofré <i>et al.</i> , 2009)
Gall d'indi cuït	400	2	4	3,8			(Juck <i>et al.</i> , 2012)
Gall d'indi cuït	600	2	4	5,1			(Juck <i>et al.</i> , 2012)
Salsitxa vienesa	500	1	25	>5 <sup>d</sup>	<i>Lactobacillus casei</i>		(Chung <i>et al.</i> , 2010)
Pasta de peix (verat)	400	7	20-25	>5			(Ramaswamy, 2008)
Truita <sup>a</sup>	414	5	20	>4			(Basaran-Akgul <i>et al.</i> , 2010)
Truita <sup>a</sup>	517	5	20	>5			(Basaran-Akgul <i>et al.</i> , 2010)
Truita <sup>a</sup>	414	5	20	>2	1-3% sal		(Basaran-Akgul <i>et al.</i> , 2010)
Truita <sup>a</sup>	517	5	20	>8 <sup>d</sup>	1-3% sal		(Basaran-Akgul <i>et al.</i> , 2010)
Salmó fumat	200	180	-18	4,28	-18°C; pH=7		(Ritzet <i>et al.</i> , 2008)
Salmó fumat	200	180	4°C	4,89	pH=4,5		(Ritzet <i>et al.</i> , 2008)
Salmó fumat	200	180	-18	8,91 <sup>d</sup>	-18°C; pH=4,5		(Ritzet <i>et al.</i> , 2008)
brain-heartinfusion	400	10	15	>8-9 <sup>d</sup>		7 <sup>b</sup>	(Jofré <i>et al.</i> , 2010)
brain-heartinfusion	900	10	15	>8-9 <sup>d</sup>		>21 <sup>b</sup>	(Jofré <i>et al.</i> , 2010)
Suc de poma	375	20	20	<1			(Espina <i>et al.</i> , 2013)
Suc de poma	375	20	20	>5 <sup>d</sup>	Olis essencials (200µL)		(Espina <i>et al.</i> , 2013)
Llet crua (per Camembert)	500	10	20	>4 <sup>d</sup>			(Linton <i>et al.</i> , 2008)
Formatge fresc	500	15	18	>5			(Arriagada, 2013)
							(Hnosko <i>et al.</i> , 2012)

<sup>a</sup>*Oncorhynchus mykiss*

<sup>b</sup>Vida útil

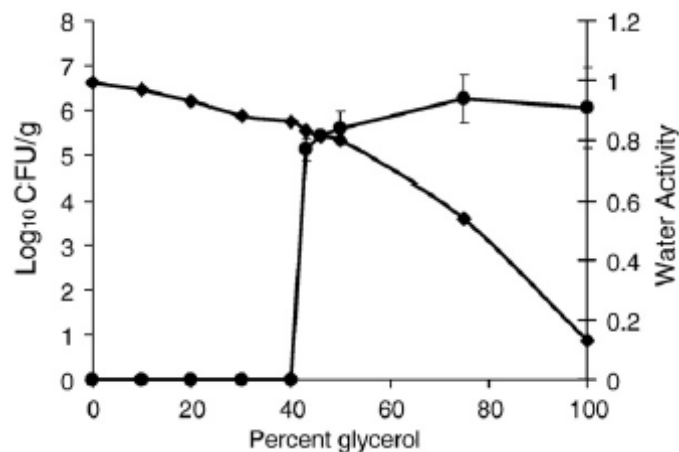
<sup>c</sup>Fase lag

<sup>d</sup>Descens per sota del límit de detecció



### 3. Diferències en la barotolerància de *Listeria monocytogenes*

Les diferències en la barotolerància de les diferents soques no només ve determinada pel genotip i el fenotip de cada soca, sinó que també afecten aspectes com l'estat fisiològic, la matriu alimentària o la combinació de tractaments (Bravo *et al.* 2014), així, per exemple, s'ha observat que (i) les cèl·lules en fase estacionària són més barotolerants que les que es troben en fase-log (Rendueles *et al.* 2011; Shearer *et al.* 2010), la qual cosa dóna èmfasi a la importància de la neteja i desinfecció de les superfícies i estris en contacte amb aliments per que les possibles cèl·lules presents no arribin a la fase estacionària (Shearer *et al.* 2010); (ii) que la barorresistència disminueix quan les cèl·lules creixen entre 10 i 25°C i augmenta significativament quan ho fan als 40°C o per sobre (Juck *et al.* 2012; Shearer *et al.* 2010); segons Hayman *et al.* (2008a) (iii) les HPP no són efectives per la reducció de *Listeria monocytogenes* en aliments amb  $A_w < 0,83$ , com es pot observar a la (fig2), en que es passa de reduccions entre 6,5-7,5log ufc/g ( $A_w > 0,86$ ) a reduccions de 2,5log ufc/g ( $A_w$  entre 0,86-0,83) i a reduccions gairebé nul·les a  $A_w < 0,83$ , possiblement degut a que les proteïnes de la membrana perden flexibilitat i no són deformades ni desnaturalitzes amb aquest tractament. Resultats que s'accentuen en experiments *in vivo*, com els de Bover-Cid *et al.* (2011) que en pernil curat ( $A_w = 0,88$ ) van necessitar fins a 750MPa per aconseguir reduccions de 5log, mostrant les diferències de barorresistència segons la matriu alimentària i estat fisiològic; (iv) que després del xoc tèrmic *Listeria monocytogenes* augmenta la seva barorresistència, com es pot veure a la (fig3), en que Hayman *et al.* (2008b) van observar que després d'un xoc tèrmic a 48°C durant 5 minuts previ al HPP augmentava significativament la barorresistència de *Listeria monocytogenes*; que (v) la efectivitat de les altes pressions és superior quan s'apliquen entre 40 i 60°C (Rendueles *et al.*, 2011); i que (vi) quan s'apliquen a baixes temperatures la barorresistència és menor, degut possiblement als canvis en l'estructura i fluïdesa de la membrana atribuïbles a la cristallització parcial dels lípids que la formen (Rendueles *et al.* 2011).

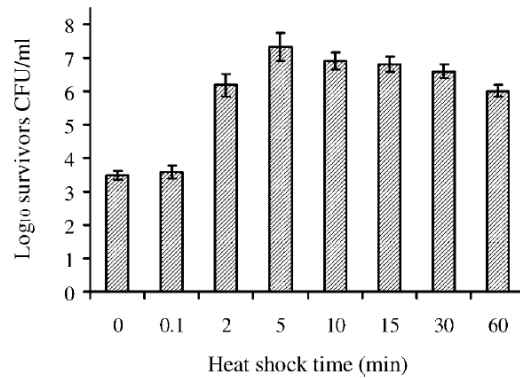


**Fig2.** Recomptes logarítmics de *Listeria monocytogenes* després aplicar 600MPa durant 5 minuts a temperatura ambient, en funció de l' $A_w$  (diferents concentracions de glicerol).

Legenda: (♦) activitat d'aigua; (●) recompte log (ufc/g).

(Hayman *et al.*, 2008a)





**Fig3.** Recòmptes logarítmics de *Listeria monocytogenes* després aplicar 400MPa durant 90 segons a temperatura ambient (previ xoc tèrmic a 48°C). Inòcul inicial 7log ufc/g llet esterilitzada.

(Hayman, *et al.*, 2008b)

## 4. Aplicació comercial de les HPP al món

**4.1. Aliments en que s'aplica.** Els equips d'alta pressió comercial es troben majoritàriament a l'Amèrica del Nord, que n'acumula aproximadament el 60%, tot i que els primers equips es van instal·lar al Japó a la dècada de 1990 per tractar melmelades. En la taula 3 s'observen alguns exemples d'aliments i tractaments, però majoritàriament s'utilitza en pel processament de productes vegetals (36%) i productes carnis (30%), seguit de productes de la pesca i sucs i begudes (un 14% cadascun), sent la resta d'aplicacions marginals (Tonello, 2010).

**4.2. Costos.** En general, els costos de producció de les HPP baixen quan els aparells són més grans i de més capacitat, tenint en compte que els preus de les màquines es mouen entre 500.000 i 2.000.000 € per capacitats entre 55 i 425 Litres, suposant el cost de l'equip el 60% de la inversió, un 36% el manteniment i menys d'un 4% de costos de producció, sent el consum d'aigua gairebé negligible (Arriagada, 2013). En general el tractament més estès és el d'aplicar 600MPa durant 3-5 minuts, ja que aquest tractament inactiva la majoria de microorganismes vegetatius (Patterson *et al.*, 2011).

**Taula 3.** Productes RTE tractats per HPP disponibles comercialment i tractament als que han estat sotmesos.

Aliment	Pressió (MPa)	Temps (minuts)	Vida útil (dies)
Guacamole	600	10	30
Sucs i begudes	450	10	
Marisc	200-300	1	
Pernil cuit	400	10	60
Pernil sec curat (sense refrigeració)	600	10	40
Sucs de fruita	450	10	

Tonello, 2010

**4.3. Aplicació industrial.** Les empreses que apliquen altes pressions han de tenir en compte dos premisses com són que les cinètiques d'inactivació no segueixen equacions de primer ordre, pel que el seu càlcul és difícil, sobretot a pressions superiors a 700MPa (Hereu *et al*, 2012b; Chung *et al*, 2010), i que un canvi en la formulació pot afectar negativament a la reducció de *Listeria monocytogenes*, com mostren els estudis de Stollewerk *et al*. (2012), que van observar que canviant NaCl per KCl en la formulació d'un pernil sec curat i fumat baixava la efectivitat del tractament front *Listeria monocytogenes*, la qual cosa indica que possiblement els canvis de formulació s'haurien de complementar amb nous challenge test.

## 5. Conclusions

*Listeria monocytogenes* és un patogen que tot i no tenir una alta morbiditat sí té una alta mortalitat en comparació amb la resta de bacteries patògenes d'origen alimentari, aquest factor sumat la seva ubiqüitat, supervivència en ambients hostils i a l'augment de les listeriosis a la UE27 fa que aquest patogen estigui en el punt de mira de les autoritats europees, sent d'especial preocupació en aliments RTE, ja que estan altament processats, no es fa un tractament tèrmic posterior i es solen emmagatzemar en fred.

Per eliminar aquest patogen una de les solucions alternatives al tractament tèrmic són les altes pressions, que disminueixen la càrrega patogènica vegetativa eficientment a pressions de 600MPa durant 2-3 minuts sense afectar significativament a la qualitat organolèptica dels productes RTE, i que aplicat juntament amb tractaments barrera com bacteriocines, bacteris competidors, olis essencials, tractament a temperatures per sota de 0°C o baix pH disminueixen els recomptes després del tractament, dificulten la recuperació de cèl·lules lesionades subletalment i/o allarguen la fase de latència de *Listeria monocytogenes* i la vida útil dels aliments a diferents temperatures d'emmagatzemament, amb el conseqüent benefici econòmic.

Per últim, les empreses que apliquen altes pressions han de tenir molt en compte que la barorresistència de *Listeria monocytogenes* pot augmentar segons les condicions d'estrès prèvies al tractament HPP i segons les condicions d'aquest tractament; i que hi ha diferències significatives entre les reduccions segons la matriu alimentària, pel que és recomanable fer Challenge tests per producte (també quan hi ha canvis en la formulació), els quals s'han de fer tenint en compte que les cèl·lules poden haver patit lesions subletals que impedeixin el creixement a curt termini, però no necessàriament a llarg termini, i que segons el medi de cultiu la recuperació pot ser diferent.

## 6. Bibliografia

- Arriagada, E.K. 2013. Effect of high pressure processing (HPP) on starter-free fresh cheese shelf-life. Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Basaran-Akgul, N., Mousavi-Hesary, M., Basaran, P., Shin, J.H., Swanson, B.G., Rasco, B.A. 2010. High pressure processing inactivation of *Listeria innocua* in minced trout. *J food process press*. 34: 191–206.
- Bover-Cid, S., Belletti, N., Garriga, M., Aymerich, T. 2011. Model for *Listeria monocytogenes* inactivation on dry-cured ham by high hydrostatic pressure processing. *Food Microbiology*. 28:804-809.
- Bravo, D., Alba, M., Medina, M. 2014. Combined treatments of high-pressure with the lactoperoxidase system or lactoferrin on the inactivation of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7 in beef carpaccio. *Food Microbiology*. 41:27-32.
- Chung HJ, Yousef AE. 2010. Synergistic effect of high pressure processing and *Lactobacillus casei* antimicrobial activity against pressure resistant *Listeria monocytogenes*. *N Biotechnol*. 27:403-408.
- EFSA. 2013. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Listeria monocytogenes* in certain ready-to-eat foods in the EU, 2010-2011. *EFSA Journal*. pp:75.
- EFSA. 2014. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012. *EFSA Journal*. pp:312.
- Espina, L., García-Gonzalo, D., Laglaoui, A., Mackey, B.M., Pagán, R. 2013. Synergistic combinations of high hydrostatic pressure and essential oils or their constituents and their use in preservation of fruit juices. *Int J Food Microbiol*. 161: 23-30.
- FAO/OMS. 2004. Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: interpretative summary. *FAO/OMS*. Rome . pp:86.
- Gou, J., Jung, L., Lee, S., Ahn, J. 2011. Effects of Nisin and Acid on the Inactivation and Recovery of *Listeria monocytogenes* Biofilms Treated by High Hydrostatic. *Food Sci Biotechnol*. 20: 1361-1366.
- Gudbjornsdottir, B., Jonsson, A., Hafsteinsson, H., Heinz, V. 2010. Effect of high-pressure processing on *Listeria* spp. and on the textural and microstructural properties of cold smoked salmon, *LWT - Food Sci Technol*. 43:366-374.
- Hayman, M.M., Kouassi, J.K., Anantheswaran, R.C., Floros, J.D., Knabel, S.J. 2008a. Effect of water activity on inactivation of *Listeria monocytogenes* and lactate dehydrogenase during high pressure processing. *Int J Food Microbiol*. 124:21-26.
- Hayman M.M., Anantheswaran R.C., Knabel S.J. 2008b. Heat shock induces barotolerance in *Listeria monocytogenes*. *J Food Prot*. 71:426-430.

Hereu, A., Bover-Cid, S., Garrig, M., Aymerich, T. 2012a. High hydrostatic pressure and biopreservation of dry-cured ham to meet the Food Safety Objectives for *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol.*154:107-112.

Hereu, A., Dalgaard, P., Garriga, M., Aymerich, T., Bover-Cid, S. 2012b. Modeling the high pressure inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes* on RTE cooked meat products. *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* 16:305-315.

Hnosko J, San-Martin Gonzalez MF, Clark S. 2012. High-pressure processing inactivates *Listeria innocua* yet compromises Queso Fresco crumbling properties. *J Dairy Sci.* 95:4851-4862.

Jofré, A., Aymerich, T., Grèbol, N., Garriga, M. 2009. Efficiency of high hydrostatic pressure at 600MPa against food-borne microorganisms by challenge tests on convenience meat products. *Lwt - Food Sci Technol.* 42: 924-928.

Jofré, A., Aymerich, T., Bover-Cid, S., Garriga, M. 2010. Inactivation and recovery of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* and *Staphylococcus aureus* after high hydrostatic pressure treatments up to 900 MPa. *Int Microbiol.* 13:105-112.

Juck, G., Neetoo, H., Beswick, E., Chen, H. 2012. Influence of prior growth conditions, pressure treatment parameters, and recovery conditions on the inactivation and recovery of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, and *Salmonella Typhimurium* in turkey meat. *Int J Food Microbiol.*153:203-211.

Linton, M., Mackle, A.B., Upadhyay, V.K., Kelly, A.L., Patterson, M.F. 2008. The fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture of Camembert-type cheese: A comparison between raw milk and milk treated with high hydrostatic pressure. *Innov Food Sci Emerg.* 9:423-428.

Marcos, B., Jofré, A., Aymerich, T., Monfort, JM., Garriga, M. 2008. Combined effect of natural antimicrobials and high pressure processing to prevent *Listeria monocytogenes* growth after a cold chain break during storage of cooked ham. *Food Control,* 19:76-81.

McArdle, R., Marcos, B., Kerry, J.P., Mullen, A. 2010. Monitoring the effects of high pressure processing and temperature on selected beef quality attributes. *Meat Sci.* 86:629-34.

Patterson, M.F., Mackle, A., Linton, M. 2011. Effect of high pressure, in combination with antilisterial agents, on the growth of *Listeria monocytogenes* during extended storage of cooked chicken. *Food Microbiol.* 28:1505-1508.

Ramaswamy, H.S., Zaman, S.U., Smith, J.P. 2008. High pressure destruction kinetics of *Escherichia coli* (O157:H7) and *Listeria monocytogenes* (Scott A) in a fish slurry. *J Food Eng.* 87:99-106.

Rendueles, E., Omer, M.K., Alvseike, O., Alonso-Calleja, C., Capita, E., Prieto, M. 2011. Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: A review. *LWT - Food Sci Technol.* 44:1251-1260.

Ritz, M., Jugiau, F., Federighi, M., Chapleau, N., de Lamballerie, M. 2008. Effects of high pressure, subzero temperature, and pH on survival of *Listeria monocytogenes* in buffer and smoked salmon. *J Food Prot.* 71:1612-1618.

Shearer, A.E., Neetoo, H.S., Chen, H. 2010. Effect of growth and recovery temperatures on pressure resistance of *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol.* 136:359-363.

Stollewerk, K., Jofré, A., Comaposada, J., Arnau, J., Garriga, M. 2012. The effect of NaCl-free processing and high pressure on the fate of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* on sliced smoked dry-cured ham. *Meat Sci.* 90: 472-477.

Stollewerk, K., Jofré, A., Comaposada, J., Arnau, J., Garriga, M. 2014. Food safety and microbiological quality aspects of QDS process® and high pressure treatment of fermented fish sausages. *Food Control.* 38:130-135.

Sun, DW. 2005. Emerging technologies for food processing. Elsevier academic. San Diego, Calif. pp: 771.

Tonello, C. 2010. Case Studies on High-Pressure Processing of Foods, En: *Nonthermal Processing Technologies for Food*. Ed: Zhang, H. Q., Barbosa-Cánovas, G. V., Balasubramaniam, V.M., Dunne, C. P., Farkas, D. F., Yuan, J. T.C. Wiley-Blackwell, Oxford, UK. pp:36-50.