

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**

**“ANTONIO NARRO”**

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL DEPARTAMENTO DE CIENCIA

Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



**MÉTODOS ALTERNATIVOS DE CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS**

Por:

**GUILLERMO GARCÍA MUÑOZ**

**MONOGRAFIA**

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

**INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Diciembre del 2010

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"

La Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" a través del jurado examinador hace constar que la monografía titulada:

**Métodos alternativos de conservación de alimentos**

Presentada por:

**Guillermo García Muñoz**

Ha sido aceptada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**APROBADA**

**Presidente del jurado**



**Lic. Laura Olivia Fuentes Lara**

**Vocal**

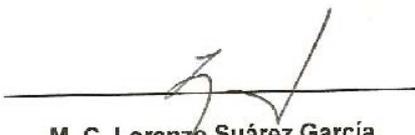


**Dr. Heliodoro De La Garza Toledo**

**Vocal**



**Ing. Emilio Ochoa Reyes**



**M. C. Lorenzo Suárez García**

Coordinador de la División de Ciencia Animal

Buenavista, Saltillo; Coahuila, Diciembre del 2010



## **AGRADECIMIENTOS**

**A DIOS Y A LA VIRGEN DE GUADALUPE:** Por acompañarme siempre en todo momento de dificultad, cuidarme, protegerme y permitirme terminar satisfactoriamente mis estudios, por cuidar a mi familia durante todo este tiempo y permitirme regresar siempre a mi casa con bien.

**A MI ALMA MATER:** Por cuanto recibí de ella, por haberme brindado la oportunidad de superarme y crecer en ella, en la trayectoria, aprendí mucho, tanto en conocimientos, como en experiencia personal, para mí fue la mejor etapa de todos los años de estudio y gracias por haberme dado las herramientas para poder desarrollarme en el ambiente laboral.

**A MIS SINODALES:** A la Lic. Laura Olivia Fuentes Lara por haberme ayudado en la resolución de este trabajo, tenerme tanta paciencia y sobre todo por ser una excelente persona y profesora. Al padrino de generación, el Dr. Heliodoro de la Garza Toledo y a mi amigo el Ing. Emilio Ochoa Reyes, por haberme ayudado a la conclusión de este trabajo, no como sinodales les doy este agradecimiento sino como amigos.

**A MIS MAESTROS:** M.C. Óscar Noé Reboloso Padilla, M.C. Xochilt Rúelas Chacón, M.C. María Hernández González y Dra. Verónica Charles Rodríguez.

Por transmitirme sus conocimientos, por todo su apoyo y amistad, gracias.

## **DEDICATORIAS**

Dedico este trabajo a mi familia por su gran apoyo y por haberme brindado su confianza, cariño y amor.

### **A mis padres**

Sr. Guillermo García Hernández

Sra. Lucia Muñoz Cerón

Porque gracias a ustedes, a su cariño, comprensión y apoyo pude terminar mi carrera y no saben lo agradecido que estoy con ustedes, ya que gracias a sus enseñanzas, consejos y regaños pude lograrlo, y por eso les voy a estar agradecido el resto de mi vida son los mejores padres que puede tener.

### **A mis Hermanos**

Darío, Rauhel, Marco Antonio y Osvaldo. Por su apoyo y amistad que aparte ustedes son una parte importante por el que yo me quisiera superar, gracias por ser como son.

### **A mi esposa**

Karen Amador Ponce, que a pesar de no tener mucho tiempo de compartir la vida conmigo, ya se me hace imposible vivir sin ella y por sacrificar a su familia por estar conmigo.

ÍNDICE GENERAL	Pág.
Agradecimientos.....	lii
Dedicatorias.....	lv
Índice general.....	v
Índice de cuadro.....	viii
Índice de figura.....	lx
1.- Introducción.....	1
2.- Objetivo general.....	3
3.- Objetivos específicos.....	4
4.- Métodos químicos y la bioconservación.....	5
4.1 Métodos químicos.....	5
4.2 La bioconservación.....	7
4.2.1 Especies, hierbas y aceites esenciales.....	8
4.2.2 Otros compuestos fenólicos.....	12
4.2.3 Aldehídos y derivados.....	12
4.2.4 Ácidos orgánicos.....	13
4.2.5 Polisacáridos.....	13
4.2.6 Efectos de los antimicrobianos sobre la salud.....	14
5.- Alimentos mínimamente procesados.....	16
5.1 Atmósferas controladas.....	17

5.1.1 Envasado en atmosfera controlada (eac).....	17
5.2 Atmósferas modificadas.....	18
5.2.1 Envasado en atmosfera controlada (eam).....	20
5.3 Cambios de ph.....	21
5.4 Control biológico.....	22
6.- Alta presión hidrostática.....	24
6.1 Efectos sobre los microorganismos.....	26
6.2 Mecanismos de inactivación.....	26
6.3 Aplicaciones.....	28
6.4 Necesidad de investigación.....	29
7.- Microondas.....	30
7.1 Efectos sobre los microorganismos.....	31
7.2 Mecanismos de inactivación.....	32
7.3 Aplicaciones.....	33
7.4 Necesidades de investigación.....	35
8.- Luz ultravioleta.....	36
8.1 Efectos sobre los microorganismos.....	37
8.2 Mecanismos de inactivación.....	37
8.3 Aplicaciones.....	37
8.4 Necesidades de investigación.....	38

9.- Pulsos de luz blanca.....	39
9.1 Efectos sobre los microorganismos.....	40
9.2 Mecanismos de inactivación.....	40
9.3 Aplicaciones.....	41
9.4 Necesidades de investigación.....	41
10.- Campos de pulsos eléctricos de alta intensidad.....	42
10.1 Efectos sobre los microorganismos.....	43
10.2 Mecanismos de inactivación.....	44
10.3 Aplicaciones.....	47
10.4 Necesidades de investigación.....	47
11.- Campos magnéticos oscilantes.....	48
11.1 Efectos sobre los microorganismos.....	49
11.2 Mecanismos de inactivación.....	50
11.3 Aplicaciones.....	51
11.4 Necesidades de investigación.....	52
12.- Conclusiones.....	53
13.- Bibliografía.....	54

ÍNDICE DE CUADRO

Pág.

Cuadro 1. Antimicrobianos utilizados en sistemas modelo a base de frutas, frutas frescas y frutas frescas cortada..... 11

ÍNDICE DE FIGURAS	Pág.
Figura 1. Cámara de presurización directa.....	25
Figura 2. Horno de microondas.....	31
Figura 3. Lámpara de mercurio de baja presión.....	36
Figura 4. Representación esquemática de la ruptura reversible de la membrana celular.....	44
Figura 5. Electroporación de una membrana celular mostrando las zonas de hinchamiento, lisis e inactivación celular.....	46
Figura 6. Cascada de respuestas en la célula expuesta a un campo magnético...	50

## 1.- INTRODUCCIÓN

La palabra conservar deriva de la latina conservare, que significa mantener intacto o inalterado, por eso se aplica este término a aquellos procedimientos que permiten que los alimentos sean resistentes al deterioro. La inocuidad es uno de los cuatro grupos básicos de características que, junto con las nutricionales, las organolépticas y las comerciales, componen la calidad total de los alimentos (CALDERON- MIRANDA, 1998).

Un alimento inocuo es aquel que no ocasiona un daño o enfermedad a la persona que lo consume. Debido a la fuerte relación que existe entre la inocuidad y la salud de los consumidores, el obtenerla adquiere importancia fundamental e indiscutible. Los alimentos durante su obtención, preparación, manipulación, transporte, almacenamiento o consumo, y por causas provocadas no deliberadamente, sufren variaciones en sus características organolépticas o sensoriales (color, aroma, textura, sabor), composición química o valor nutritivo, de tal manera que su aceptabilidad para el consumo queda suprimida o sensiblemente disminuida, aunque puede sin embargo permanecer inocuo. Un alimento puede estar expuesto a diversos agentes y perder su inocuidad. Los agentes pueden ser físicos, químicos o biológicos, que al alterar el alimento pueden provocar un daño en la salud del consumidor (SANCHEZ- MORENO, 2006)

La población está interesada en consumir alimentos libre de patógenos, con la menor cantidad de aditivos químicos, que sean sensorialmente aceptables, con un valor nutricional elevado y que representen una alternativa en la prevención de enfermedades.

La esterilización de alimentos sin aplicación de calor, es decir por métodos no térmicos, constituye una alternativa novedosa de conservación de los alimentos. Las tecnologías que aparecieron al comienzo del siglo XX como prometedoras en la pasteurización de alimentos líquidos, como la leche, vienen a ser ahora tecnologías de

avanzada, que ofrecen grandes ventajas en el procesamiento de alimentos sin aplicación de calor.

Los procesos no térmicos presentan varias ventajas sobre los métodos convencionales de procesamiento térmico. Los procesos no térmicos se llevan a cabo a temperaturas bajas (50°C), ayudan a la inactivación de microorganismos patógenos y deteriorativos así como a la inactivación de enzimas, teniendo un ligero efecto sobre el color, sabor, textura y propiedades nutricias del alimento. Por contrario a lo que sucede durante el procesamiento térmico de alimentos en dónde hay pérdida de nutrientes, vitaminas y valiosos atributos sensoriales. La posibilidad de generar alimentos que retengan sus cualidades nutricias y a su vez sean seguros para el consumidor hace que los nuevos métodos de procesamiento de alimentos tengan un futuro prometedor.

**PALABRAS CLAVE:** Alimentos Procesados, Bioconservacion, Compuestos Fenolicos, Ácidos Orgánicos,

## **2.- OBJETIVO GENERAL:**

Recopilar información de los fundamentos de los métodos alternativos de conservación de alimentos, su potencial como procesos complementarios de los tradicionales para disminuir o al menos minimizar los cambios que presentan los alimentos cuando son sometidos a un tratamiento térmico.

### **3.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- 1.- Brindar información sobre los principios de los métodos alternativos de conservación más estudiados en la actualidad.
- 2.- Aprender los efectos de estos métodos sobre los microorganismos y sus mecanismos de inactivación.
- 3.- Evaluar el efecto de los métodos en la calidad de los nutrientes.
- 4.- Investigar las aplicaciones presentes y futuras de cada uno de los métodos.
- 5.- Conocer las necesidades de investigación futuras para cada uno de ellos.

## **4.- METODOS QUÍMICOS Y LA BIOCONSERVACIÓN**

### **4.1 Métodos químicos**

Conservantes. (E-200 A e-299) Los conservantes se utilizan para proteger los alimentos contra la proliferación de microorganismos que pueden deteriorarlos o envenenarlos, con lo cual se aumenta el periodo de vida del producto. Tales compuestos incluyen los ácidos sórbico y benzoico y sus sales, dióxido de sulfuro y sus sales, así como nitritos y nitratos utilizados en salmueras. Hay además diversos ácidos orgánicos que se producen de forma natural, como los ácidos fumárico, málico, propiónico y acético y sus sales, que se utilizan para dar sabor y para controlar la acidez de los alimentos, así como por tener una efectiva acción antimicrobiana.

Utilizados para conservar los alimentos. Los más desaconsejables son los nitritos y los nitratos.

Antioxidantes. (E-300 a E-399) Se usan para evitar que los alimentos grasos se pongan rancios y para proteger las vitaminas liposolubles (A, D, E y K) de la oxidación. Entre los antioxidantes sintéticos están los ésteres de ácido gálico, butil-hidroxitolueno y butil-hidroxianisol. Las vitaminas C y E también se pueden utilizar como antioxidantes, mejorando el valor nutricional del alimento al que se añaden. En realidad, hay ciertas evidencias de que los antioxidantes sintéticos utilizados en la fabricación de alimentos también tienen una función antioxidante útil en el cuerpo.

Estabilizantes y emulgentes. (E-400 a E-499) Utilizados para mantener el aspecto físico original de los alimentos recién preparados evitando así la formación de grietas o cristales. Los aditivos de este grupo se emplean para que los aceites y grasas se puedan mezclar con agua y formar así emulsiones suaves (como la margarina y la mayonesa), para dar una textura cremosa y suave a los alimentos y para aumentar el periodo de duración de los productos horneados.

Antiapelmazantes. Estos agentes se usan para que algunos productos en polvo como la sal o la harina no sean compactos. Entre los antiapelmazantes se incluyen la harina de huesos (que se emplea también para enriquecer la harina con calcio).

Acidulantes y correctores de la acidez: como el nombre indica, se utilizan para modificar la acidez de un producto. En algunos productos de confitería son un complemento indispensable para conseguir la adecuada aromatización.

Otros: antiaglomerantes, gasificantes, endurecedores, secuestrantes, agentes de recubrimiento, antiespumantes, humectantes.

Aunque la mayoría de los aditivos no presentan problemas utilizados en las dosis recomendadas, salvo casos de alergias, unos pocos plantean algunas dudas sobre la necesidad de utilizarlos o bien suponen un riesgo potencial para la salud.

Nitratos y nitritos: constituyen un grupo de aditivos utilizados para evitar el desarrollo de microorganismos que pueden dar lugar a intoxicaciones alimentarias como botulismo. Se cuestionan porque se cree que pueden reaccionar con los aminoácidos y formar nitrosaminas, sustancias potencialmente cancerígenas.

Sulfitos y derivados: los sulfitos son seguros para la mayoría de las personas. Sin embargo, se ha observado que una pequeña parte de la población desarrolla falta de respiración o conmoción letal poco después de exponerse a estos conservadores. Los sulfitos pueden provocar ataques de asma graves en asmáticos sensibles a sulfitos. Por esa razón, en 1986 la FDA prohibió el uso de sulfitos en frutas y verduras frescos destinados a venderse o servirse crudos a los consumidores. En la etiqueta del producto deben listarse los sulfitos agregados a todos los alimentos empacados y procesados, también se sabe que destruyen la vitamina B1. Su uso no es aceptable en la carne, porque puede enmascarar una mala calidad de la materia prima. Añadidos al vino evitan que este se agrie.

Fosfatos: utilizados en la leche, pueden indicar que esta no es de buena calidad.

Glutamato: potenciador del sabor en platos precocinados, caldos y salsas. Puede provocar intolerancia en personas sensibles. En general se plantean dudas sobre la necesidad de su utilización.

Tartrazina: colorante artificial amarillo que puede originar alergia y reacciones cruzadas con la aspirina. Se cuestiona su utilidad, así como la de los demás colorantes y potenciadores del sabor. Se usa para dar color a bebidas, polvos para postres, dulce, helado, flanes y otros alimentos. El aditivo colorante puede causar urticaria en menos de una de cada 10,000 personas. Por ley, siempre que el color se agregue a un alimento o se tome de manera interna, debe listarse en la etiqueta. Esto permite a la pequeña parte de la población que pueda ser sensible a la tartrazina que lo evite.

BHA y BHT: existe la sospecha de que estos dos antioxidantes artificiales puedan potenciar la acción de algunos carcinógenos, pero todavía no hay datos concluyentes al respecto. La Organización de Consumidores y Usuarios recomienda sustituirlos por vitamina E u otros antioxidantes naturales libres de toda sospecha.

## **4.2 La bioconservación**

La bioconservación puede ser definida como la extensión de la vida de anaquel y seguridad de un alimento a través del uso de microbiota natural o controlada y/o sus compuestos antimicrobianos (Stiles, 1996). En la bioconservación de alimentos se incluyen desde técnicas utilizadas para obtener alimentos más seguros hasta la generación de alimentos mínimamente procesados y sin aditivos. Por lo anterior, la bioconservación ha tomado un gran auge basándose en el efecto de los llamados

bioconservadores que aumentan la vida útil e incrementan la seguridad de los alimentos. La implementación de tecnologías modernas en el procesamiento y aseguramiento de la seguridad microbiológica de los alimentos han disminuido pero no eliminado los riesgos de las enfermedades relacionadas con el consumo de alimentos contaminados con microorganismos.

Muchos alimentos contienen compuestos naturales con actividad antimicrobiana. En estado natural, estos compuestos pueden desempeñar el papel de prolongadores de la vida útil de los alimentos. Incluso muchos de ellos han sido estudiados por su potencial como antimicrobianos alimentarios directos.

El uso de aditivos alimentarios de origen natural implica el aislamiento, purificación, estabilización e incorporación de dichos compuestos con fines antimicrobianos a los alimentos sin que ello afecte negativamente a las características sensoriales, nutritivas y a su garantía sanitaria. Esto tiene que lograrse manteniendo los costes de formulación, procesado o comercialización.

Los sistemas antimicrobianos naturales pueden clasificarse por su origen animal, vegetal y microbiano. El primero de estos grupos incluye proteínas, enzimas líticas tales como lisozima, hidrolasas tales como lipasas y proteasas (Beuchat, 2001) y polisacáridos como el quitosán (Davidson y Zivanovic, 2003). El segundo grupo incluye compuestos fenólicos provenientes de cortezas, tallos, hojas, flores, ácidos orgánicos presentes en frutos y fitoalexinas producidas en plantas (Beuchat, 2001), mientras que el tercer grupo incluye compuestos producidos por microorganismos.

#### **4.2.1 Especies, hierbas y aceites esenciales**

Muchas especias y hierbas exhiben actividad antimicrobiana; entre las usadas en alimentos se encuentran por ejemplo el apio, cilantro, laurel, almendra, albahaca, café,

angélica, puerro, rábano picante, hierbabuena, tomillo, etc. Los compuestos presentes en especias y hierbas que tienen actividad antimicrobiana son derivados simples y complejos del fenol, los cuales son volátiles a temperatura ambiente.

Las especias son raíces, cortezas, semillas, brotes, hojas o frutos de plantas aromáticas que se añaden a los alimentos como agentes “flavorizantes”. Sin embargo, se sabe desde tiempos antiguos que las especias y sus aceites esenciales tienen diferentes grados de actividad antimicrobiana. El primer reporte del uso de las especias como conservadores se remonta a unos 1,550 años a.C., cuando los antiguos egipcios las empleaban para conservar alimentos y embalsamar a los muertos (Davidson, 2001).

Muchas partes de plantas y sus extractos usados como especias y hierbas han mostrado efectos antimicrobianos contra bacterias y hongos.

Dentro de las bacterias patogénicas adversamente afectadas por un amplio rango de compuestos presentes en esos condimentos se incluyen: *C. botulinum*, *B. cereus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*, *S. aureus*, and *V. parahaemolyticus*. Los aceites esenciales son líquidos aceitosos obtenidos a partir de diferentes partes de las plantas como flores, yemas, semillas, hojas, ramas, corteza, hierbas, madera, frutos y raíces (Burt, 2004). De acuerdo a sus características químicas son mezclas complejas de ésteres, aldehídos, cetonas y terpenos. Además son compuestos olorosos, muy solubles en alcohol y poco solubles en agua (Nychas, 1995). Para la extracción de estos compuestos se pueden utilizar distintos solventes (acetato, etanol, y cloruro de etileno), originándose compuestos con alta actividad antimicrobiana como el timol del timo y orégano, el aldehído cinámico de la canela o el eugenol del clavo.

El interés en la aplicación de aceites esenciales para el control de patógenos pre y postcosecha se ha incrementado en años recientes debido a que poseen características especiales y presentan un gran potencial en la conservación de alimentos. Los aceites esenciales derivados de plantas son conocidos por su actividad antimicrobiana contra un amplio rango de bacterias y hongos (Ayala-Zavala y col., 2005).

Los estudios “*in vitro*” realizados con aceites esenciales han demostrado que la actividad antimicrobiana está influida por el medio de cultivo, la temperatura de incubación y el tamaño del inoculó utilizado (Nychas y Skandamis, 2003). Así mismo las características de los microorganismos son también importantes sobre la efectividad de los aceites esenciales. En la **Tabla 1** se muestran las concentraciones mínimas inhibitorias de diferentes aceites esenciales probados contra distintos microorganismos patógenos transmitidos por alimentos.

Son relativamente pocos los estudios sobre la actividad antimicrobiana de aceites esenciales en sistemas modelo de alimentos o en alimentos propiamente dichos. Sin embargo, en los estudios realizados se ha logrado ver que la eficacia de los aceites esenciales “*in vitro*” es frecuentemente mucho mayor que en los alimentos (Nychas y col., 2003).

Tabla 1. Antimicrobianos utilizados en sistemas modelo a base de frutas, frutas frescas y frutas frescas cortadas.

Antimicrobiano	Sustrato	Efecto	CMI (ppm)/CU	Referencia
Vainillina	Sistemas modelo de agar a base de frutas	Inhibición de la tasa de crecimiento radial de colonias de especies de <i>Aspergillus</i>	1000-2000	López-Malo y col., 1995
Eugenol, timol, mentol y eucaliptol	Cerezas	Inhibición del crecimiento de bacterias aerobias mesófilas, mohos y levaduras	/1 ml en forma de vapor (aplicado en gasas humedecidas con el aceite esencial)	Serrano y col., 2005
Carvacrol y ácido cinnámico	Melón fresco cortado y kiwi	Reducción de los recuentos de microorganismos viables en kiwi y extensión de la fase lag de la flora microbiana natural en melón	1mM	Roller y Seedhar 2002
Aceite de mandarina, sidra, limón y lima	Ensalada de frutas	Aumento de la vida de anaquel y reducción del crecimiento microbiano		Lanciotti y col., 2004
Metil Jasmonato	Guayaba	Incremento de la tolerancia contra el ataque de patógenos		González-Aguilar y col. 2004
Metil Jasmonato y etanol	Fresa fresca	Deterioro del deterioro fúngico y aumento de la capacidad antioxidante		Ayala-Zavala y col., 2005
Hexanal	Manzanas frescas cortadas	Inhibición del crecimiento de bacterias aerobias mesófilas, psicrófilas, mohos y levaduras	/0.15 mmol/100g	Lanciotti y col., 1999
Hexanal y trans-2-hexenal	Manzanas frescas cortadas	Extensión de la vida útil de la fruta por inhibición del crecimiento de la flora nativa y prolongación de la fase lag de levaduras inoculadas	/diferentes concentraciones fueron evaluadas.	Corbo y col., 2000
Hexanal, (E)-2-hexenal y hexil acetato	Manzanas frescas cortadas	Efecto bactericida contra <i>L. monocytogenes</i> y extensión de fase lag de <i>E. coli</i> , y <i>S. Enteritidis</i>	/150, 150 y 20 de hexanal, hexil acetato y (E)-2-hexenal respectivamente	Lanciotti y col., 2003
Vapores de ácido acético glacial, peróxido de hidrógeno y dióxido de cloro	Manzanas enteras	Reducción de la población de <i>E. coli</i> inoculada en 3.5 log <sub>10</sub> ufc/g usando ácido acético en vapor, reducciones 2log <sub>10</sub> usando soluciones de peróxido de hidrógeno o dióxido de cloro y reducción de 4,5 log <sub>10</sub> usando dióxido de cloro en forma gaseosa	/Varias	Sapers y col., 2003
Vapores de ácido acético	Uva de mesa	Reducción de hasta 94% del deterioro		Ayala-Zavala y col., 2005
Peróxido de hidrógeno como solución de lavado	Manzanas enteras	Reducción de la población de <i>E. coli</i>	/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (5%)	Sapers y col., 2002
Peróxido de hidrógeno como solución de lavado	Melón entero y cortado	Reducción de la población de <i>Salmonella</i> spp. Inoculada en melones enteros	/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (2.5 % y 5%)	Ukuku, 2004
Peróxido de hidrógeno, nisina, lactato de sodio y ácido cítrico aplicados como soluciones de lavado	Melón entero y cortado	Reducción en la transferencia de <i>E. coli</i> O157:H7 y <i>L. monocytogenes</i> del fruto entero al fruto picado	/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (2.5%) o una mezcla de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (1%) + nisina (25 g/ml) + lactato de sodio (1%) + ácido cítrico (0.5%)	Ukuku y col., 2005

CMI: concentración mínima inhibitoria. CU: concentración utilizada

Fuente: Raybaudi-Massilia y col. 2006

#### 4.2.2 Otros compuestos fenólicos

Compuestos fenólicos tales como los ácidos cafeico, clorogénico, p-coumárico, ferúlico y quínico están presentes en partes de plantas que son usadas como especias. La actividad antimicrobiana de esos y otros ácidos como hidroxicinnámico y cinnámico pueden retardar la invasión microbiana así como también la putrefacción de frutas y vegetales. Bacterias Gram- positivas y Gram-negativas, mohos y levaduras comúnmente encontradas como organismos deteriorativos son sensibles a los derivados del ácido hidroxicinnámico. Los ácidos cafeico, ferúlico y p-coumárico, por ejemplo, inhiben *E. coli*, *S. aureus* y *B. cereus*. Otros compuestos fenólicos que han demostrado tener actividad antimicrobiana son los taninos y el ácido tánico. Este último por ejemplo es inhibitorio para *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. Enteritidis*, *S. aureus*, *A. hydrophila* y *S. faecalis* (Beuchat, 2001).

Compuestos fenólicos como los flavonoles, típicamente presentes en frutas y en el té verde, tienen actividad antibacteriana. Así, Puupponen y col. (2001) demostraron que myricetin, utilizado como compuesto químico puro, inhibió el crecimiento de bacterias ácido lácticas derivadas de la flora del tracto gastrointestinal de humanos, pero no afectó al crecimiento de *Salmonella*, mientras que extractos preparados directamente a partir de fresas, frambuesas y otras fueron fuertes inhibidores de *Salmonella* y *E. coli*.

#### 4.2.3 Aldehídos y derivados

Algunos aldehídos como el hexanal y su derivado trans-2-hexanal, que son moléculas naturalmente presentes en manzanas (compuestos volátiles característicos del aroma) han mostrado tener efectos antimicrobianos al aplicarlos en manzanas frescas cortadas, logrando aumentar su vida útil (Lanciotti y col., 1999; Corbo y col., 2000).

#### 4.2.4 Ácidos orgánicos

Uno de los principales factores que influye en la supervivencia y crecimiento de los microorganismos es la acidez del medio. Las bacterias capaces de causar enfermedades no pueden crecer a valores de pH por debajo de 3.9 a 4.0. Los alimentos ácidos que presentan valores de pH por debajo de ese límite están esencialmente protegidos contra la contaminación por bacterias patógenas. Las frutas que contienen ácidos, cítrico, málico o tartárico entre otros, como naranjas, peras, manzanas y uvas generalmente se encuentran en ese rango.

El ácido benzoico está presente en arándanos, ciruelas, manzanas y fresas. Su actividad antimicrobiana es mayor contra levaduras y mohos que contra bacterias en general, **aunque es capaz de inhibir el crecimiento de bacterias patógenas, incluyendo *V. parahaemolyticus*, *S. aureus*, *B. cereus* y *L. monocytogenes*.** El ácido sórbico también está presente en frutas y se utiliza extensivamente para el control del crecimiento microbiano en alimentos. Los ácidos acético, láctico y propiónico que son producidos en alimentos fermentados, frecuentemente juegan un rol importante en la prevención del crecimiento de bacterias patógenas (Beuchat, 2001).

#### 4.2.5 Polisacáridos

Recientemente se ha investigado el efecto inhibitorio de polisacáridos como el quitosán (heteropolisacárido) que es un derivado deacetilado de la quitina, la cual es uno de los polímeros más abundantes en la naturaleza, encontrándose en organismos como crustáceos, insectos y hongos. Su efectividad como antimicrobiano fue investigada por **Sebti y col., (2005)** sobre *Aspergillus niger*, encontrando que una película con quitosán al 0.1% (p/v) inhibió totalmente el crecimiento del moho en placas de agar sabouraud.

A pesar de que son pocos los trabajos de investigación realizados sobre el efecto de agentes antimicrobianos en frutas, se puede señalar que ambos tipos de sustancias antimicrobianas, sintéticas y naturales, han sido probadas en sistemas modelos a base de frutas, en frutas enteras y frutas frescas cortadas. En la Tabla 2 se presenta un resumen de diferentes antimicrobianos utilizados solos o combinados para inhibir el crecimiento de la flora natural o inoculada en frutas.

Debido a que el uso de sustancias antimicrobianas en frutas frescas cortadas en concentraciones suficientes para inhibir o eliminar los microorganismos deteriorativos o patógenos puede ejercer una fuerte influencia sobre las características sensoriales del producto, se piensa que una combinación de antimicrobianos o de métodos de conservación como por ejemplo, el uso de temperaturas bajas o atmósferas modificadas combinado con sustancias antimicrobianas sintéticas o naturales podrían ser una buena alternativa para la conservación de este tipo de productos.

#### **4.2.6 Efectos de los Antimicrobianos sobre la Salud**

En contraste a lo que normalmente se pensaba sobre el efecto negativo que podría tener el uso de compuestos fenólicos sobre la nutrición y la salud en humanos, se ha encontrado en los últimos años que muchos de estos compuestos tienen efectos protectores.

Específicamente en las áreas de nutrición y cáncer se ha demostrado que esos compuestos protegen los tejidos contra los efectos tóxicos y neoplásicos de un amplio rango de carcinógenos.

Así, los polifenoles y sus derivados presentes en el té verde y negro han manifestado tener efectos precursores contra el cáncer y enfermedades del corazón, por lo que la ingesta regular de vegetales y frutas así como el consumo de té reducen el riesgo de diversos tipos de cáncer en humanos. Por otra parte se ha observado que los fenoles (por

ejemplo, ácidos cafeíco y ferúlico) son altamente efectivos contra la formación de potentes carcinógenos a partir de aminas y amidas secundarias. Otros compuestos fenólicos (por ejemplo, oleuropein) obtenidos a partir de hojas y frutos del olivo han demostrado efectos farmacológicos hipotensivos (Nychas, 1995).

Sin duda, el aspecto más importante del uso de compuestos antimicrobianos es el toxicológico. Se tiende a pensar que los compuestos naturales que tienen actividad antimicrobiana son menos tóxicos que los sintéticos, sin embargo no siempre es así. Para que un compuesto con actividad antimicrobiana se considere apropiado para ser utilizado en alimentos se debe demostrar que no tiene efectos tóxicos a través de estudios con animales o que no es responsable de alteraciones de la salud al ser consumido con regularidad en alimentos como las especias.

El problema está en que las concentraciones necesarias de especias o compuestos extraídos de ellas, para lograr la inhibición del crecimiento microbiano normalmente son mayores que las consumidas con regularidad. Por otra parte, es importante que se demuestre que esas sustancias son metabolizadas, excretadas, no dejan residuos y que no destruyen nutrientes importantes presentes en los alimentos (Davidson y Zivanovic, 2003).

## 5.- ALIMENTOS MÍNIMAMENTE PROCESADOS

Estos alimentos son procesados y preparados en un tiempo mínimo antes de su consumo. El proceso incluye la selección, lavado, pelado, cortado, tratamiento térmico si es necesario y envasado. Sin embargo, estas operaciones no aseguran la ausencia de microorganismos o la estabilidad a largo plazo del producto; por lo tanto, los productos mínimamente procesados deben ser almacenados en refrigeración. El agua de riego, el suelo y los fertilizantes orgánicos son algunas de las fuentes posibles de la contaminación en los campos. La estacionalidad también influye en la microflora presente en el producto. La contaminación también puede ocurrir durante cosecha, transporte, el proceso, o el almacenaje.

Los microorganismos que están adheridos a la superficie de los vegetales frescos, recién cosechados, son principalmente saprofitos gram-negativos. Sin embargo, también pueden encontrarse algunos microorganismos patógenos humanos, y también los vegetales de hojas verdes que están en contacto con el suelo pueden proteger bacterias más o menos sensibles al medio ambiente. Estos microorganismos pueden sobrevivir a los pasos de lavado y esterilización porque forman biofilms en la superficie del vegetal o porque están protegidos por su cutícula.

El proceso de cortado hace que los vegetales sean más susceptibles al deterioro químico y microbiológico debido a que durante este proceso las células son destruidas y se liberan exudados ricos en minerales, azúcares, vitaminas, y otros compuestos. Estos nutrientes pueden permitir el crecimiento de los microorganismos que han sobrevivido al procesado. La prolongación de la vida útil de los vegetales mínimamente procesados empaquetados en atmósferas modificadas limita el crecimiento de algunos microorganismos. Sin embargo, esta tecnología puede crear las condiciones que apropiadas para el lento crecimiento de bacterias patógenas tales como *L. monocytogenes* y algunas enterobacterias como *Escherichia coli*.

## **5.1 Atmósferas controladas**

La atmósfera controlada es una técnica frigorífica de conservación en la que se interviene modificando la composición gaseosa de la atmósfera en una cámara en frigoconservación, en la que se realiza un control de regulación de las variables físicas del ambiente (temperatura, humedad y circulación del aire). Se entiende como atmósfera controlada (AC) la conservación de un producto hortofrutícola, generalmente, en una atmósfera empobrecida en oxígeno (O<sub>2</sub>) y enriquecida en carbónico (CO<sub>2</sub>). En este caso, la composición del aire se ajusta de forma precisa a los requerimientos del producto envasado, manteniéndose constante durante todo el proceso.

Esta técnica asociada al frío, acentúa el efecto de la refrigeración sobre la actividad vital de los tejidos, evitando ciertos problemas fisiológicos y disminuir las pérdidas por podredumbres. La acción de la atmósfera sobre la respiración del fruto es mucho más importante que la acción de las bajas temperaturas. Esta atmósfera controlada ralentiza las reacciones bioquímicas provocando una mayor lentitud en la respiración, retrasando la maduración, estando el fruto en condiciones latentes, con la posibilidad de una reactivación vegetativa una vez puesto el fruto en aire atmosférico normal.

### **5.1.1 Envasado en atmosfera controlada (EAC)**

La tecnología de EAC deriva de la tecnología de atmósfera controlada (AC) utilizada para ampliar la vida útil de las frutas y verduras almacenadas a granel. Estos almacenes herméticos están equipados con sistemas que controlan escrupulosamente la composición de

la atmósfera gaseosa en el interior.

Con el envasado en atmósfera controlada (EAC), el empleo de películas para envasar selectivamente permeables en asociación con una composición conocida del gas introducido en el envase proporciona una atmósfera interna con la composición deseada durante la vida útil del producto. En el envase cerrado descenderá el nivel de oxígeno y aumentará el nivel de CO<sub>2</sub>, debido a los efectos de la respiración natural del vegetal crudo. Si el envase fuese totalmente impermeable, se alteraría el producto con bastante rapidez como resultado de la glucólisis anaerobio con bajas presiones de oxígeno.

El empleo de una película semipermeable idónea permite la entrada de oxígeno en una cuantía controlada para sustituir el oxígeno captado por el producto fresco. Cuanto menor sea la permeabilidad de la película, menor será el nivel final de oxígeno. La estabilidad se alcanzará a una determinada temperatura cuando la captación de oxígeno por el producto sea la misma que la reposición desde la atmósfera exterior. El valor de la presión estable del oxígeno depende de las variables tales como el producto, la película, la temperatura y la composición gaseosa de las atmósferas interna y externa.

## **5.2 Atmósferas modificadas**

El envasado en atmósfera modificada debido a las importantes innovaciones técnicas (tipos de film, etc.) desarrolladas en los últimos años, ha sido considerado como un factor de conservación nuevo e imprescindible en el procesado mínimo de productos vegetales. Consiste en envasar el producto bajo films plásticos con una permeabilidad definida y se basa en cambiar las condiciones gaseosas del entorno del producto como consecuencia de su metabolismo y de la barrera semipermeable que supone el envase

plástico. El principio en el que se basa el envasado en atmósferas modificadas puede ser conseguido de forma pasiva, mediante la utilización de materiales de envasado que presenten una permeabilidad adecuada, o de forma activa utilizando una mezcla de gases junto con un envase también permeable.

El objetivo de ambos procesos es crear un balance óptimo de gases dentro del envase, en el cual la intensidad respiratoria del producto vegetal sea lo más baja posible y que por otro lado, los niveles de oxígeno y de dióxido de carbono no sean perjudiciales para el mismo (aparición de procesos anaerobios). En general, el objetivo es alcanzar una composición de gases con efecto antimicrobiano de 8-10 % CO<sub>2</sub>, 2-5% O<sub>2</sub> y el 22 resto de nitrógeno (Ahvenainen, 1996; Solomos, 1994; Brackett, 1994). Distintos autores han mostrado el efecto beneficioso del empleo de atmósferas modificadas en frutos cortados como rodajas de kiwi (Agar y col., 1999), manzana Fuji y Golden Delicious (Soliva-Fortuny y col., 2001, 2004), melocotón y nectarina (Gorny y col., 1999), pera (Gorny y col., 2002), mango en cubos (Rattanapone y col., 2001), melón en cubos (Bai y col., 2001), y sandía (Cartaxo y col., 1997).

Existen muchos factores que pueden afectar la vida útil de los alimentos vegetales envasados mediante esta técnica: intensidad respiratoria, gases en el interior del envase, relación entre el volumen del envase y el peso del producto vegetal; la naturaleza del envase (tipo de film, permeabilidad, etc.); la temperatura de almacenamiento y distribución del producto, el tipo de proceso al que ha sido sometido el material vegetal. Todos estos factores están muy íntimamente relacionados entre sí. La intensidad respiratoria depende de la temperatura de almacenamiento y distribución, el procesado (cortado, pelado, la utilización de cuchillos afilados, el higienizado con cloro), el tipo de producto vegetal (variedad, estado fisiológico, prácticas de cultivo y la historia del producto (almacenamiento en frío o no de la materia prima), el ratio oxígeno y dióxido de carbono dentro del envase, y la concentración absoluta de oxígeno.

Los dos últimos son los que tienen un mayor efecto en la vida útil de los productos. Cuando se utiliza el envasado en atmósferas modificadas, a menudo se debe tener en cuenta el peligro de la posibilidad de producción de *Clostridium botulinum* no proteico o crecimiento de patógenos, ej. *Listeria monocytogenes*, en particular cuando la temperatura de

almacenamiento es superior a 30C. Por lo general, la fluctuación de temperatura favorece el crecimiento de estos patógenos. Esta circunstancia se produce a menudo durante la cadena de distribución de los productos vegetales procesados en fresco. Si la vida útil de los productos envasado en atmósferas modificadas debiera ser mayor de 10 días, y existe el riesgo de que la temperatura supere 3C, se deben introducir otros factores específicos de control de la seguridad del alimento (Betts, 1996).

### **5.2.1 Envasado en atmosfera controlada (EAM)**

En la técnica del envasado en atmósfera modificada se deben tener en cuenta cuatro componentes básicos: el envase empleado, la mezcla de gases, los materiales de envase y los equipos de envasado; todos ellos condicionados a su vez por la naturaleza del producto a envasar.

La composición normal del aire utilizado en el EAM es de 21% de oxígeno, 78 % de nitrógeno y menos del 0,1 % de dióxido de carbono. El CO<sub>2</sub> es un gas altamente soluble en agua y con propiedades bacterioestáticas y fungiestáticas, lo que retarda el crecimiento de hongos y bacterias aeróbicas. El CO<sub>2</sub> actúa alargando la fase vegetativa del crecimiento microbiano. El dióxido de carbono no es totalmente inerte y puede influir sobre el color, la consistencia y otros atributos de la calidad de las hortalizas.

Las concentraciones de CO<sub>2</sub> han de estar comprendidas entre el 20 y 60%, siendo más efectiva su acción a bajas temperaturas. En el envasado en atmósfera modificada se procura reducir al máximo el contenido en oxígeno para disminuir el deterioro de los productos por oxidación. El nitrógeno se caracteriza por ser un gas inerte. La utilización del N<sub>2</sub> evita el colapso de los envases en aquellos casos en los que el producto absorbe **5.3.- CO<sub>2</sub>**.

Los factores que afectan a la intensidad de estos procesos y las condiciones de manipulación y comercialización, deben ser tenidos en cuenta para diseñar las características

del sistema: producto-envase-entorno. Por ello, para efectuar el envasado en atmósfera modificada, debe seleccionarse una película polimérica con características de permeabilidad adecuadas.

El empleo de películas de diferente permeabilidad dará lugar a la formación de atmósfera de equilibrio distinto y por tanto la evolución de los frutos también será diferente. La envoltura individual de los frutos con una película retráctil conforma una segunda lámina externa de protección y una microatmósfera alrededor del fruto. Esta barrera evita la pérdida de humedad, protege frente a la propagación de podredumbres y mejor las condiciones higiénicas en la manipulación.

### **5.3 Cambios de pH**

Uno de los factores que gobierna el crecimiento de los microorganismos en los alimentos es el pH. En general las bacterias crecen a pH cercanos a la neutralidad (pH 6.5 a 7.5) pero sin embargo son capaces de tolerar un rango de pH entre 4 y 9. A diferencia de éstas, los mohos y las levaduras toleran un rango más amplio de pH para su crecimiento, ya que pueden crecer a pH por debajo de 3.5. Las levaduras y mohos deteriorativos proliferan más comúnmente en frutas y vegetales debido a sus características inherentes como su bajo pH y baja capacidad reguladora (Doores, 1993). Una manera efectiva de limitar el crecimiento de los microorganismos es incrementar la acidez del alimento. La capacidad de limitar el crecimiento de los microorganismos dependerá del tipo de microorganismo, especie, tipo y concentración del ácido, tiempo de exposición y la capacidad reguladora del alimento.

La actividad de los ácidos orgánicos es totalmente dependiente del pH y de la capacidad de disociación del ácido (pKa), ya que como se ha señalado la forma indisociada del ácido es la responsable de la actividad antimicrobiana. En consecuencia al escoger un ácido orgánico como aditivo alimentario antimicrobiano, hay que tener en consideración tanto el pH del producto como el pKa del ácido.

El uso de ácidos orgánicos se restringe generalmente a alimentos con pH menor de 5.5, debido a que la mayor parte de los ácidos orgánicos tienen pKas de pH 3.0 a 5.0 (Davidson, 2001).

El modo de acción de los ácidos orgánicos en la inhibición del crecimiento microbiano parece estar relacionado con el mantenimiento del equilibrio ácido-base, la donación de protones y la producción de energía por las células. Los sistemas biológicos y químicos dependen de la interacción entre los sistemas ácido-base. La célula microbiana normalmente refleja este equilibrio atendiendo al mantenimiento de un pH interno cercano a la neutralidad.

La homeostasis es la tendencia de una célula a sostener un equilibrio químico a pesar de las fluctuaciones en el ambiente. Este balance se mantiene por medio de la interacción de una serie de mecanismos químicos, causando su alteración la destrucción de las células microbianas. Las proteínas, los ácidos nucleicos y fosfolípidos pueden ser alterados estructuralmente por los cambios de pH (Doores, 1993).

#### **5.4 Control biológico**

Uno de las principales factores que se utilizan para el control microbiológico de alimentos vegetales sometidos a un procesado mínimo es el empleo de agentes químicos como cloro (gas o hipoclorito sódico, dióxido de cloro) (60- 200 ppm), ácidos orgánicos (ácido cítrico, ácido propiónico, ácido acético, ácido láctico), ácido peroxiacético, ozono, peróxido de hidrógeno, etc. Se adicionan al agua de lavado, con el fin de producir una reducción significativa de la carga microbiológica, y por tanto mejorar la vida útil y la calidad sensorial de los productos.

La efectividad del cloro puede ser mejorada mediante una reducción del pH del agua, el descenso de la temperatura, el empleo de agua pura y la selección de un tiempo de

tratamiento correcto (Delaquis y col., 1999). Las alternativas al empleo de cloro son el uso de dióxido de cloro, ozono, fosfato trisódico o peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). En particular, el uso de peróxido de hidrógeno y de 22 ozonos para higienizar productos vegetales procesados en fresco son dos alternativas muy prometedoras al empleo de cloro. Hay que tener en cuenta que ciertos países no permiten el empleo de cloro en el lavado de la materia prima vegetal y los lavados deben efectuarse con solo agua pre-enfriada (4°C).

## 6.- ALTA PRESIÓN HIDROSTÁTICA

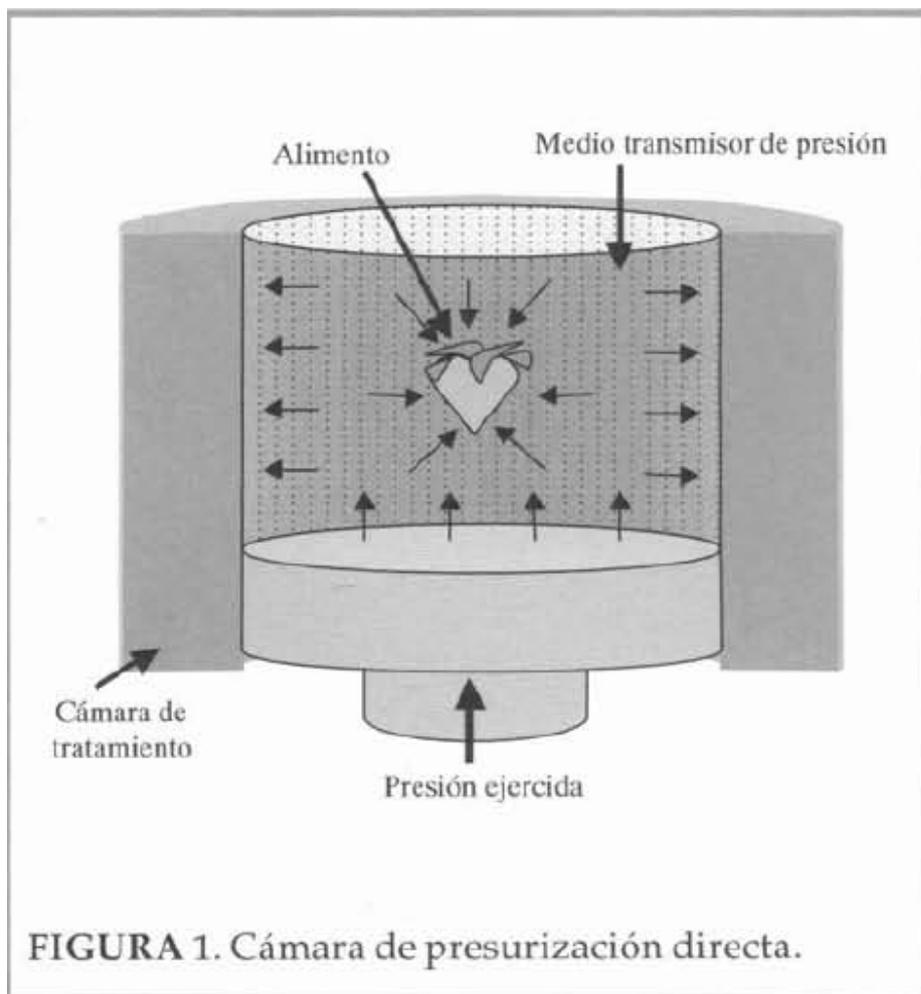
La utilización de altas presiones hidrostáticas se rige, fundamentalmente por dos principios: a) Le Chatelier, enuncia que cualquier fenómeno (reacciones químicas, cambios moleculares, etc.), que va acompañado de disminución de volumen sufre un incremento al aumentar la presión, y viceversa y b) la ley de Pascal, según la cual una presión externa aplicada a un fluido confinado se transmite de forma uniforme e instantánea en todas las direcciones. De acuerdo con este último principio, esta tecnología puede aplicarse directamente a alimentos líquidos o a cualquier producto envasado sumergidos en un fluido de presurización (de baja compresibilidad). La presión aplicada al sistema permitiría un tratamiento isostático y uniforme independientemente del tamaño, forma y volumen del material procesado.

Cuando los alimentos se tratan en su envase, éste debe ser flexible y deformable (ha de tolerar reducciones de volumen de hasta un 15%). Es especialmente importante la evacuación de los gases del interior para evitar que su compresión reduzca la eficacia de la presurización.

Un sistema de HHP consta de una cámara de tratamiento con chaqueta, un sistema generador de alta presión, medio transmisor de presión, controlador de temperatura y el equipo para el manejo del alimento. A fin de iniciar el tratamiento de HHP el alimento se introduce a la cámara de tratamiento. Una vez cerrada la cámara de tratamiento, esta se llena con un medio transmisor de la- presión. El medio transmisor de presión es el que comprime a alimento de manera isostática; por lo general se emplea agua potable o bien agua potable emulsificada con agentes anti-corrosivos que ayudan a prevenir el deterioro de la cámara de tratamiento. A continuación se remueve el aire a fin de presurizar la cámara. La presurización puede ser de manera directa con ayuda de un pistón que comprime el medio transmisor de la presión (Figura 1), de manera indirecta bombeando el medio transmisor de presión a interior de la cámara hasta que se alcanza la presión deseada o bien por calentamiento del medio

transmisor de presión. El procesamiento de alimentos por HHP consta de carga, presurización, tiempo de retención, des-presurización y descarga.

Los tiempos de retención a la presión de procesamiento varían en un rango de 5 a 20 min., de acuerdo a alimento y temperatura de procesamiento. Las presiones empleadas durante el procesamiento del alimento son mayores a 400 MPa (BARBOSA-CÁNOVAS *et al.*, 1998).



Es característico del procesamiento a HHP el tratamiento del alimento ya envasado por lo que se elimina el riesgo de contaminación posterior al procesamiento. El producto

puede envasarse en multilaminados, películas de alcohol etilen-vinílico (EVOH) y alcohol polivinílico (PVOH) o bien en envases de aluminio (BARBOSA-CÁNOVAS *et al.*, 1998).

## 6.1 Efectos sobre los microorganismos

El efecto de las altas presiones hidrostáticas puede resumirse en los siguientes puntos: disminución de la síntesis de ADN, aumento de la permeabilidad de las membranas celulares, desnaturalización de biopolímeros y proteínas, incluida inactivación de enzimas, por cambios en la estructura intramolecular (>300 MPa). Estos hechos, pueden afectar, en mayor o menor grado, la viabilidad de los microorganismos y otros agentes alterantes así como modificar los componentes de los alimentos y cambiar las características organolépticas de los mismos (1,2). La sensibilidad de los microorganismos a la aplicación de alta presión hidrostática (barosensibilidad) depende de múltiples factores, siendo objeto de múltiples investigaciones. En cuanto a los efectos en los componentes y características de los alimentos, en las condiciones habituales de procesado, no se afectan enlaces covalentes y puede decirse que no se alteran los aromas ni el valor nutritivo de los alimentos. Sin embargo, sí que se pueden producir cambios de color y de apariencia, y modificaciones en los atributos de textura, aunque los efectos varían de unos alimentos a otros.

## 6.2 Mecanismos de inactivación

La inactivación de microorganismos como *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Staphylococcus aureus* entre otros ha sido estudiada. La alta presión hidrostática provoca un incremento en la permeabilidad de la célula, inhibe reacciones energéticas y desnaturaliza enzimas esenciales para el crecimiento y reproducción de la célula microbiana. Se ha observado la formación de filamentos y disminución de motilidad por pérdida de flagelos en

microorganismos tratados por alta presión hidrostática.

Los factores que intervienen en el grado de inactivación de los microorganismos son el tipo de microorganismo y su fase de crecimiento, la magnitud, duración y la temperatura del tratamiento de HHP, así como la composición del alimento (pH, actividad de agua, etc.) (PALOU, 1998).

Dentro de los microorganismos existen diferencias en cuanto a grado de inactivación logrado por medio de HHP. Los microorganismos Gram positivos son más resistentes que los Gram negativos. Microorganismos patógenos como la *L. monocytogenes* y *S. aureus* requieren de 20 min a 340 MPa y 400 MPa respectivamente para una reducción de 6 ciclos logarítmicos. Los microorganismos en estado vegetativo se inactivan a presiones de 400-600 MPa, mientras que las esporas y algunas especies resisten 1000 MPa a temperatura ambiente. El género de los *Staphylococcus* se encuentra dentro de las más resistentes puesto que sobrevive 500 MPa durante más de 60 min. Algunas levaduras como *S. cerevisiae* sufren dos reducciones logarítmicas a 304 MPa y más de 6 reducciones logarítmicas a 405 MPa (PALOU, 1998). Los microorganismos son más susceptibles a la alta presión cuando están en la fase de crecimiento logarítmica. Esto puede deberse a que en la fase estacionaria su tamaño es pequeño y esférico en comparación con la forma alargada que tienen durante el crecimiento logarítmico. Las esporas de *Bacillus cereus* no sufren una reducción logarítmica considerable aún a 608 MPa por 10 min. Sin embargo algunas esporas germinan a dichas presiones por tanto se puede lograr la inactivación de las células vegetativas. Por otro lado, el origen del cultivo microbiano es de suma importancia durante la inactivación del microorganismo por altas presiones. *L. monocytogenes* obtenida de una colección de cultivos después de 30 min a 375 MPa presentó una reducción de sólo 3 ciclos logarítmicos mientras que el mismo tratamiento aplicado a la cepa Scott A así como a una especie aislada del pollo presentó una reducción de 4 y 7 ciclos logarítmicos respectivamente (PALOU, 1998).

### 6.3 Aplicaciones

Aunque inicialmente la aplicación de altas presiones hidrostáticas se realizó, fundamentalmente, con fines de conservación, diversas investigaciones han puesto en evidencia su enorme potencial de transformación en la elaboración de diversos productos. Como sistema de conservación, se han conseguido resultados equivalentes a una pasterización térmica en diversos productos con tratamientos de 400 – 500 MPa, durante varios minutos. Sin embargo, el umbral de esterilización no está bien definido en muchos casos. Se han probado distintas estrategias para incrementar la eficacia, así se han ensayado procesos combinados de presurización (> 400 MPa) con tratamientos térmicos suaves (esterilización a baja temperatura) y/o agentes como bacteriocinas (lisozima, nisina) y lactoferrina.

En el mercado pueden encontrarse productos presurizados como mermeladas (primeros comercializados a partir de 1990 en Japón), zumos, jaleas, concentrados y purés de frutas, postres (en países como Japón, USA, Alemania), patés (por ejemplo en Francia), productos lácteos (en Reino Unido), derivados cárnicos curados y cocidos loncheados y preparados listos para su consumo (en España). En diversas investigaciones se ha comprobado su eficacia en la prevención de intoxicaciones por *V. parahaemolyticus* en la comercialización de ostras, favoreciéndose además su apertura y potenciando el sabor. En ovoproductos, permiten el control de *Salmonella* spp, sin afectación de sus propiedades funcionales. En la actualidad, se está investigando el efecto de altas presiones en equipos de homogenización que permiten el tratamiento de líquidos a presiones superiores a los 700 MPa, con elevado efecto conservador.

Con fines distintos a la conservación, la aplicación de altas presiones hidrostáticas permite obtener distintos tipos de geles de pescado, carne, huevo y leche. Así mismo, esta tecnología acelera la difusión de solutos en diversos alimentos, la solubilización de gases y

los procesos de extracción. La posibilidad de utilizar altas presiones para mantener alimentos a temperaturas inferiores a 0 °C en estado de líquido (a 207,5 MPa, el agua permanece líquida a temperaturas de -22°C) o para inducir una congelación y descongelación ultra-rápida constituye un nuevo y prometedor campo de estudio y aplicación en la Industria Alimentaria.

En la actualidad, se utilizan fundamentalmente dos procedimientos de congelación a alta presión (asistida por presión y por cambio brusco de presión), el más extendido consiste esencialmente en una rápida descompresión de 1000 a 200 MPa a una temperatura de -10 ó -20°C (3). De esta forma se promueve la formación de microcristales de hielo menos lesivos para la estructura del alimento.

#### **6.4 Necesidad de investigación**

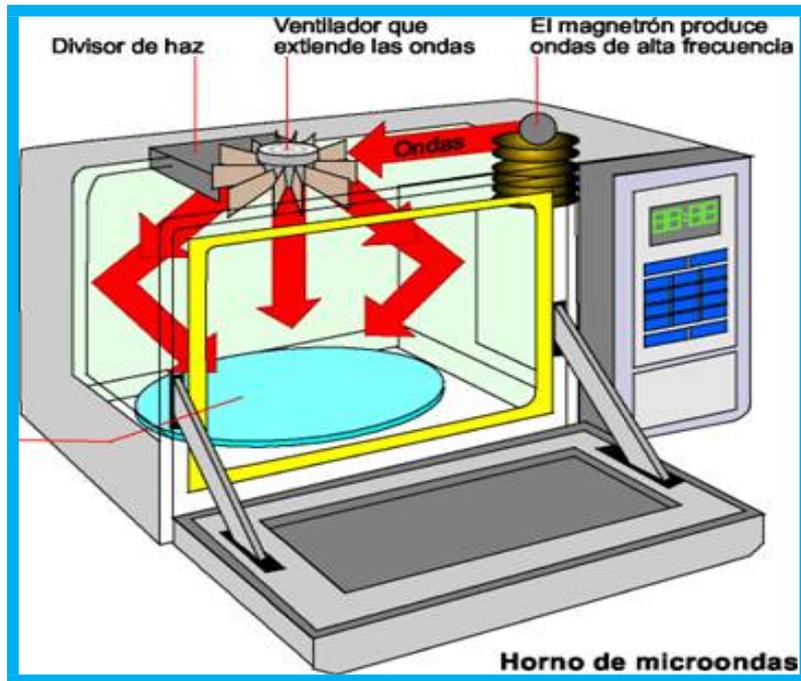
En la actualidad el gran reto en la APH se encuentra en conseguir alimentos estables a temperatura ambiente por tiempos de almacenamiento prolongados (meses) pero con el aspecto de "frescura" del producto inicial mediante la esterilización con APH (Meyer y col., 2000). Otro reto importante para lograr la implantación definitiva de la tecnología de APH en la industria es resolver el problema relacionado con el daño subletal. Este fenómeno, que depende en gran medida de la sensibilidad de cada microorganismo al tratamiento de alta presión, permite a aquellos organismos dañados o estresados reaparecer tras un periodo de recuperación (García-Graells y col., 1998). Por tanto, los microorganismos, pueden perder de forma reversible o irreversible su capacidad de multiplicarse. Las técnicas tradicionales para determinar la viabilidad de los microorganismos en ocasiones no permiten evaluar el daño producido por este tipo de estrés, sobreestimando la eficacia del tratamiento por APH.

## 7.- MICROONDAS

Aunque el tratamiento térmico de alimentos con microondas se conoce desde finales de 1940, no fue hasta los años 60 cuando las microondas de uso doméstico adquirieron popularidad, en especial en EEUU, donde se empezaron a utilizar por primera vez. Las ventajas frente a los tratamientos convencionales son velocidad, limpieza, calentamiento selectivo del alimento, ausencia de contacto con superficies calientes, reducción de costes, mejora de la calidad y ahorro de energía.

Las microondas son parte del espectro electromagnético en el intervalo de frecuencia comprendido entre las zonas del infrarrojo y las ondas de radio (300 MHz-300 GHz); dicho intervalo corresponde a longitudes de onda entre 1 m y 1 mm. Debido a la proximidad existente entre las bandas de las microondas y de las ondas de radio, pueden solaparse las primeras en la zona de las ondas del radar. Con el fin de no interferir con estos usos, las microondas domésticas e industriales operan a unas frecuencias de 2450 MHz y 915 MHz.

Las microondas se generan en el magnetrón, dispositivo que transforma la energía eléctrica en un campo electromagnético. Cuando las microondas se aplican a los alimentos, la polaridad del campo electromagnético que se origina cambia de dirección varios millones de veces por segundo. Así, los componentes polares e ionizables (agua y sales minerales, principalmente) intentan orientarse con la dirección de dicho campo electromagnético, produciéndose fricciones y choques entre las moléculas que dan lugar a un aumento de la temperatura en el interior del alimento, hecho que diferencia el calentamiento con microondas de los tratamientos térmicos tradicionales. Una vez se genera calor en el alimento, éste se transmite por conducción y convección térmica.



**Figura 2. Horno de microondas**

### **7.1 Efectos sobre los microorganismos**

Los efectos de las microondas sobre los microorganismos, algunos estudios apuntaron hace unos años la posibilidad de que existieran efectos no térmicos causantes de la letalidad. Sin embargo, se ha demostrado con posterioridad que la inactivación microbiana se debe exclusivamente al calor generado en el interior del alimento, siendo las curvas de inactivación microbiana semejantes a las de los tratamientos térmicos convencionales.

## 7.2 Mecanismos de inactivación

Probablemente la temperatura es el más importante de los factores ambientales que afectan a la viabilidad y el desarrollo microbianos. Aunque el crecimiento microbiano es posible entre alrededor de -8 y hasta +90°C, el rango de temperatura que permite el desarrollo de un determinado microorganismo rara vez supera los 35°C.

Cualquier temperatura superior a la máxima de crecimiento de un determinado microorganismo resulta fatal para el mismo, y cuanto más elevada es la temperatura en cuestión tanto más rápida es la pérdida de viabilidad. Sin embargo, la letalidad de cualquier exposición a una determinada temperatura por encima de la máxima de crecimiento depende de la termorresistencia que es una característica fundamental del microorganismo considerado.

Siempre se debe tener en cuenta a la relación temperatura-tiempo. Las temperaturas superiores a las que los microorganismos crecen producen inevitablemente su muerte o les provocan lesiones subletales. Si hay lesiones subletales, las células lesionadas pueden permanecer viables pero son incapaces de multiplicarse hasta que la lesión no se haya subsanado. Las exposiciones drásticas provocan en las poblaciones un progresivo y ordenado descenso de sus tasas de crecimiento debido a la muerte de un número de células tanto más elevado cuanto más prolongado sea el tiempo de exposición. Los factores que afectan a la termorresistencia, además del tipo de microorganismo, son el número de células existente, la fase del crecimiento en que se encuentran, y las condiciones del medio en el que se efectúa el calentamiento de los microorganismos. Las esporas bacterianas son muy resistentes a las temperaturas extremas; Algunas pueden incluso sobrevivir tratamientos de varios minutos a 120°C y horas a 100°C. Las células vegetativas de los gérmenes esporulados, al igual que las levaduras y los hongos, no son más termorresistentes que las bacterias vegetativas. La mayoría mueren tras unos minutos a 70°-80°C y en los alimentos húmedos ninguno resiste más que una exposición momentánea a 100°C. Cuanto más

elevada sea la carga microbiana inicial, tanto más tardará una población en alcanzar un determinado valor. Un buen proceso está diseñado suponiendo una determinada carga microbiana en el producto fresco. El uso de prácticas defectuosas que permitan una excesiva multiplicación microbiana antes de su aplicación puede comprometer seriamente el éxito de un tratamiento térmico.

### **7.3 Aplicaciones**

Además de los usos bien conocidos en el ámbito doméstico para calentar, cocinar y descongelar, se han desarrollado diversos equipos industriales que han ampliado enormemente el rango de aplicación de las microondas en alimentos. Así, las microondas se han utilizado durante los últimos años en aplicaciones como el proceso de secado durante la fabricación de pasta, el escaldado de vegetales y la pasteurización de alimentos envasados.

Quizás el uso industrial más exitoso es la utilización de las microondas para elevar la temperatura de piezas congeladas de carne, pescado, aves, vegetales y frutas. En la actualidad, en EEUU existen más de 400 plantas que trabajan con este fin. Esta aplicación es particularmente adecuada en el caso de piezas grandes de carne y pescado. Durante este proceso, piezas que se encuentran a  $-20^{\circ}\text{C}$  han de pasar a  $-5$  o  $-2^{\circ}\text{C}$ , con el objetivo de facilitar, así, su troceado o fileteado para su posterior empaquetado y comercialización. Tradicionalmente, el proceso se llevaba a cabo dejando los productos en cámaras climáticas durante varios días, lo cual provocaba pérdidas de líquidos como sangre y soluciones de proteínas, mermándose de forma importante su calidad. Sin embargo, cuando se utilizan las microondas para este fin, el proceso es muy rápido. Por ejemplo, en piezas de 10-40 kg se consigue alcanzar la temperatura requerida en 5-10 minutos.

Del mismo modo, en la industria láctea, las microondas se utilizan también en el tratamiento de mantequilla congelada, que debe mantenerse congelada a muy baja temperatura hasta su troceado y posterior comercialización para evitar el desarrollo de rancidez. Un método eficaz para elevar la temperatura de la mantequilla y, así, facilitar su troceado, es el tratamiento con microondas. En la actualidad, existen al menos cuatro plantas trabajando a gran escala en Inglaterra. Otra de las aplicaciones de las microondas que está resultando atractiva para las industrias es el precocinado de bacón. Se ha visto que, cuando el bacón se calienta en un equipo tradicional como el grill, se producen importantes pérdidas de agua y grasa, y, como consecuencia, la estructura del alimento se encoge. Además, la grasa se funde en la superficie caliente del grill y se deteriora considerablemente, disminuyendo su calidad. Sin embargo, el bacón calentado con microondas conserva mejor su composición inicial y, consecuentemente, las dimensiones del producto apenas varían. Sólo en EEUU, existen más de 30 equipos de procesos en continuo.

En los últimos años se ha desarrollado un equipo para llevar a cabo calentamientos mediante microondas en flujo continuo de varios tipos de alimentos más o menos viscosos, e incluso no homogéneos. Se ha comprobado que podría ser particularmente útil para tratamientos de pasterización a alta temperatura y tiempos cortos y UHT de leche, nata, yogur, salsas, purés y alimentos infantiles. Debido a la ausencia de superficies calientes en contacto con el alimento y a la rapidez del proceso (140°C se alcanzan en menos de 1 segundo), se evitan sobrecalentamientos, preservándose la calidad del producto procesado y reduciéndose costes.

En el caso de la aplicación de las microondas en alimentos envasados, también se han dedicado muchos esfuerzos en el desarrollo de diferentes tipos de envases específicos para el tratamiento con microondas. Dependiendo de la finalidad del calentamiento, existen envases pasivos (vidrio, cerámica, papel, cartón y plástico), que no interfieren con las microondas, y envases activos, que consisten en delgados fragmentos metálicos entre láminas de cartón o poliéster metalizado, que inciden en el calentamiento del alimento

mejorando la uniformidad del mismo. Estos últimos son particularmente útiles en el caso de alimentos heterogéneos como, por ejemplo, lasaña, pizzas, croissant, patatas fritas y en alimentos que han de alcanzar elevada temperatura, como es el caso de las palomitas de maíz.

#### **7.4 Necesidades de investigación**

Las microondas son radiaciones no ionizantes, es decir, no rompen enlaces químicos ni originan cambios moleculares en los componentes alimentarios. La naturaleza de las reacciones químicas que se producen es idéntica a la de los calentamientos convencionales.

Sin embargo, si existe un adecuado control de la distribución del calor durante el proceso, cabe esperar a nivel cuantitativo un menor deterioro de los componentes e incluso mejores características organolépticas, cuando se comparan alimentos sometidos a microondas con los tratados mediante un proceso convencional llevado a cabo en idénticas condiciones de calentamiento, mantenimiento de la temperatura y enfriamiento.

A pesar de que en algunas ocasiones han surgido estudios que parecían apuntar hacia posibles efectos nocivos sobre la salud derivados de los alimentos tratados con microondas, después de más de medio siglo de utilización en el ámbito doméstico, no ha podido corroborarse ninguno de los efectos adversos señalados.

## 8.- LUZ ULTRAVIOLETA

El tratamiento con radiaciones UV es una de las Nuevas Tecnologías de Conservación de los Alimentos, se investigan las aplicaciones en los diferentes tipos de alimentos, qué dosis son necesarias para lograr objetivos como la pasteurización y cómo se pueden iluminar los alimentos del mejor modo posible.

La luz UV es una radiación, es decir, una irradiación de energía que se propaga a través de la superficie y de los materiales, y consiste en exponer con esta radiación al alimento a tratar durante un periodo de tiempo establecido. De los tres tipos de luz la UV (A, B y C), la UVC es la que tiene la capacidad germicida. Los rayos UV los creamos con unas lámparas de mercurio a baja presión, de aspecto afín a los tubos fluorescentes, pero con emisión de UV.

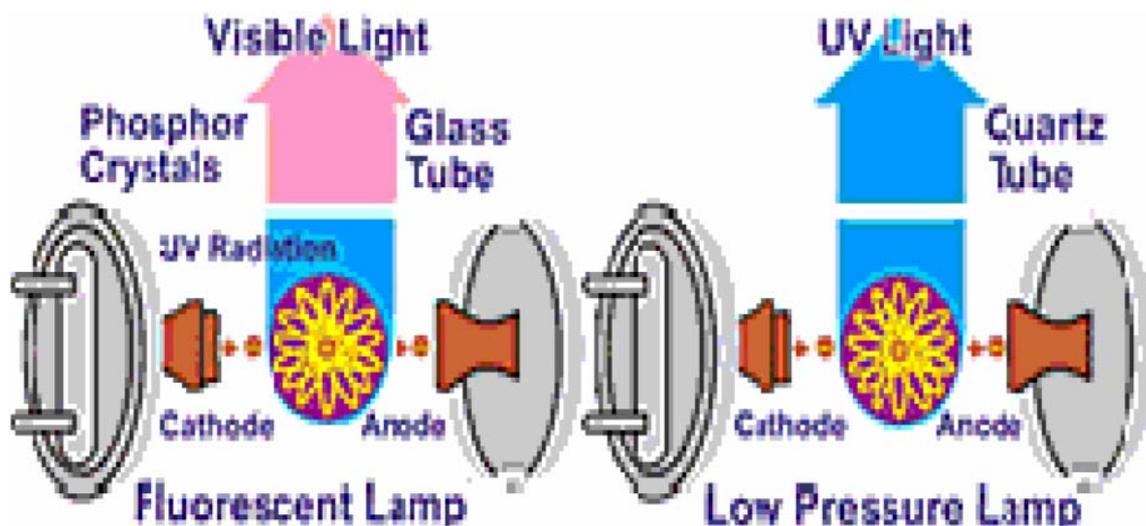


Figura 3: lámpara de mercurio de baja presión

## **8.1 Efectos sobre los microorganismos**

La capacidad de la radiación ultravioleta para la destrucción de microorganismos es bien conocida. El modo de acción antimicrobiana de la UV-C reside en el daño que ésta provoca en el ADN de los microorganismos, lo que impide la multiplicación y la viabilidad de sus células. De modo general, puede decirse que afecta tanto a las bacterias como a sus esporas, así como a los virus.

## **8.2 Mecanismos de inactivación**

Reduce el crecimiento de organismos vegetativos en productos alimenticios. La luz UV también induce estrés biológico en plantas así como mecanismos de defensa de los tejidos vegetales con la consecuente producción de fitoalexinas (Mercier, 1997). La acumulación de fitoalexinas podría ser acompañada por otras defensas inducidas tales como modificación de las paredes celulares, enzimas de defensa y muerte celular.

## **8.3 Aplicaciones**

La radiación UV se ha utilizado en la industria láctea durante muchos años, así mismo se está utilizando en la industria heladera y en el procesado de carnes, frutas y hortalizas.

La radiación UV se aplica comercialmente durante lámparas de luz ultravioleta

bactericida en los procesados de los diversos alimentos: ablandamientos de carnes, maduración de quesos, prevención de crecimiento de mohos en la superficie de productos de panadería, purificación del aire en plantas embotelladoras, establecimientos de procesados y manipulación de alimentos y en las cubiertas de encurtidos.

#### **8.4 Necesidades de investigación**

Se están investigando en productos como el pimiento, el huevo líquido, goma, zumos... Son los productos meta, por sus propiedades físicas más favorables para la actividad de estos rayos UV, aunque además ahora con el éxito de las IV gamas de vegetales puede resultar una tecnología muy adecuada para las superficies.

## 9.- PULSOS DE LUZ BLANCA

Los pulsos de luz son producidos utilizando tecnologías de ingeniería que multiplican la potencia varias veces. La potencia se magnifica por la acumulación de energía eléctrica en un condensador que almacena energía por tiempos relativamente largos (fracciones de segundos). Esta energía almacenada se utiliza para realizar el trabajo en tiempos mucho más cortos (millones o miles de segundos). El resultado es una potencia elevada durante el ciclo de trabajo, con un gasto moderado en el consumo de energía (Dunn, 1996).

Las tecnologías de Pure Pulse han desarrollado dos nuevos procesos para matar microorganismos, asociados con el envasado de productos alimenticios, suministros médicos, farmacéuticos, agua y aire (Dunn, 1996). Estos nuevos procesos son denominados por su nombre en inglés «Pure Bright» y «Cool Pure». Los pulsos de luz denominados «Pure Bright» utilizan rayos de luz de corta duración en el espectro amplio de luz blanca para matar un amplio número de microorganismos incluyendo esporos y hongos.

Cada pulso de luz dura solamente millonésimas de segundos. Durante cada pulso que pasa la intensidad de la luz es de unas 20.000 veces la intensidad de la luz en la superficie terrestre (Dunn, 1996). El proceso de campos eléctricos pulsantes de alta intensidad (Cool Pure) utiliza múltiples pulsos de corta duración, y campos eléctricos pulsantes de alta intensidad para inactivar los microorganismos en los alimentos transportados por tuberías. El intervalo de temperaturas durante la aplicación de este proceso es muy bajo, por lo que no causa daños térmicos apreciables. El sabor original, textura y funcionalidad de los productos alimenticios se mantiene (Dunn, 1996).

## **9.1 Efectos sobre los microorganismos**

La luz que se transmite con los pulsos posee componentes UV que son capaces de dañar el DNA de los microorganismos, proteínas y producir el rompimiento de las membranas celulares. Todo ese daño dependerá de la frecuencia y duración de los pulsos de luz, la longitud de onda de la luz utilizada y distancia al producto a tratar.

## **9.2 Mecanismos de inactivación**

La letalidad de los pulsos de luz es diferente a distintas longitudes de ondas. Por lo tanto, para tratar los alimentos se puede utilizar el 163 espectro completo o la longitud de onda seleccionada. Las longitudes de onda conocidas que producen productos indeseables en los alimentos se eliminan a través de filtros de vidrio o filtros líquidos. Los pulsos de luz inducen reacciones fotoquímicas o fototérmicas en el alimento.

La luz ultravioleta causa cambios fotoquímicos mientras que la luz visible e infrarroja causan cambios fototérmicos. Los efectos antimicrobianos de estas longitudes de ondas son primariamente mediados a través de la absorción de sistemas conjugados de dobles enlaces carbono-carbono en proteínas y ácidos nucleicos.

El material a esterilizar se expone como mínimo a un pulso de luz con una densidad de energía en el intervalo de 0,01 a 50 J/cm<sup>2</sup> en la superficie, usando una distribución de longitudes de onda, de tal manera que por lo menos un 70% de la energía electromagnética se distribuya en un intervalo de longitudes de onda de 170 a 2600 nm (Barbosa-Cánovas y col., 1997). La duración de los pulsos varía entre 1 y 0,01 μs. Los rayos se aplican a una tasa de 1 a 20 rayos por segundo. Para la mayoría de las aplicaciones, pocos rayos aplicados

en fracciones de segundo suministran un alto nivel de inactivación microbiana. Por lo tanto el proceso es muy rápido y sencillo para la obtención de altos rendimientos.

### **9.3 Aplicaciones**

La posibilidad de la aplicación de esta tecnología dependerá también del producto al que la vayamos a aplicar. Intervienen factores como su color, transparencia, profundidad y el contenido de grasa y proteína, para ver la viabilidad de la aplicación de los pulsos. Por ejemplo, la penetrabilidad del pulso nos es muy grande y sólo sirve para tratar superficies. Descontaminación de superficies: vegetales, productos loncheados, pescados, miel...

Higienización del agua y otros líquidos transparentes. En este caso se aplica a los zetas Portobello en láminas. La empresa Dole consigue un enriquecimiento en Vitamina D de sus productos gracias a los pulsos de luz. Además de servir como tecnología de conservación también puede ser utilizada en la Industria Alimentaria para mejorar el rendimiento de procesos de extracción como la obtención de zumos de frutas y azúcar de la remolacha.

Aunque la aplicación todavía es cara, ésta técnica seguro que con el desarrollo de la tecnología y paso de los años cada vez nos vamos encontrando con más productos tratados así.

### **9.4 Necesidades de investigación**

La necesidad de futuras investigaciones, debido a que toda la información proviene de la industria; por tanto es necesaria una investigación independiente para validar la

efectividad de la luz pulsada para la conservación de alimentos.

## **10.- CAMPOS DE PULSOS ELÉCTRICOS DE ALTA INTENSIDAD**

Los CEPAL constituyen una de las tecnologías más prometedoras para la conservación de los alimentos. La pasteurización con CEPAL involucra la utilización de pulsos eléctricos de alto voltaje en el alimento colocado entre dos electrodos. El tratamiento se realiza a temperatura ambiente o por debajo de ésta, en milésimas de segundos, y las pérdidas de energía por calor son minimizadas. Esta tecnología es considerada superior al tratamiento térmico convencional, debido a que reduce grandemente los cambios que ocurren en las propiedades sensoriales (sabor, color), y físicas (textura, viscosidad) de los alimentos (Quass, 1997). Además de conservar los atributos sensoriales de los alimentos, los CEPAL no introducen cambios químicos significativos en ellos y puede que no sean considerados como aditivo alimentario. Por el contrario, es una tecnología efectiva, segura y limpia. Los aspectos más importantes de esta tecnología son la generación de campos eléctricos pulsantes de alta intensidad, el diseño de cámaras para el tratamiento del alimento, de tal manera que éste reciba un tratamiento uniforme con un mínimo incremento de la temperatura, y el buen diseño de electrodos para minimizar la electrólisis. Para generar los campos eléctricos de alta intensidad se utiliza un banco de condensadores conteniendo más de un condensador. Gran cantidad de esta energía se almacena en los condensadores mediante la carga de una fuente eléctrica de corriente alterna, el voltaje es entonces suministrado en forma de pulsos en la medida que el condensador es descargado (Zhang y col., 1995).

La aplicación de los CEPAL está restringida a aquellos productos alimenticios que puedan soportar campos eléctricos de alta intensidad. La constante dieléctrica del alimento está estrechamente relacionada con su estructura física y su composición química. Los líquidos homogéneos de baja conductividad eléctrica proporcionan las condiciones ideales para el tratamiento continuo con CEPAL. Los alimentos sólidos también pueden ser

procesados con CEPAL en operaciones por lotes, siempre y cuando se evite la ruptura dieléctrica en el alimento. Las burbujas de aire en el fluido alimentario deben ser eliminadas cuando se usa este método, ya que, como soportan campos eléctricos de alta intensidad, causan arcos eléctricos, que pueden dar lugar a daños en la cámara y en los electrodos. En general, esta tecnología no es recomendable para el tratamiento de alimentos sólidos que retengan burbujas de aire al ser colocados en la cámara de tratamiento. Otra limitación es el tamaño de partícula de los alimentos sólidos. Para mantener una operación de proceso adecuada, el tamaño máximo de partícula en el fluido alimentario debe ser menor que la abertura de la región de tratamiento dentro de la cámara.

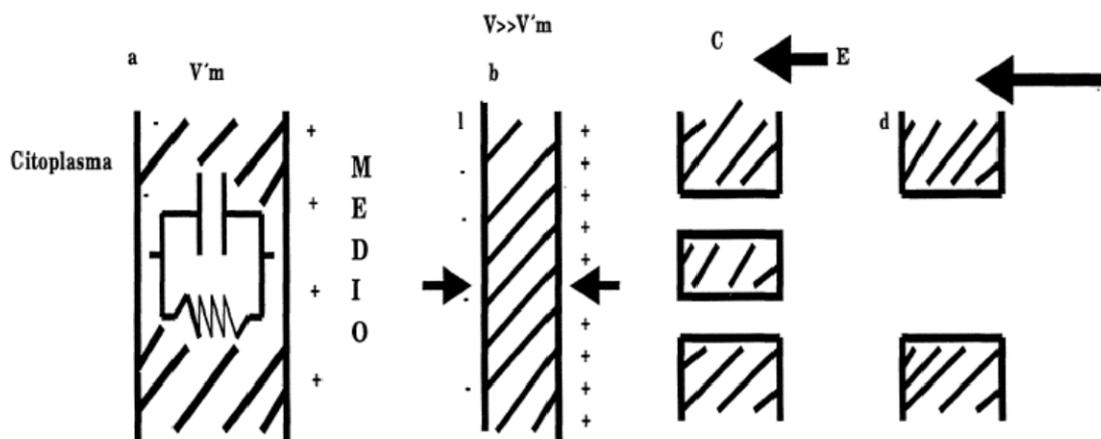
### **10.1 Efectos sobre los microorganismos**

El efecto sobre los microorganismos se basa en la alteración o destrucción de la pared celular cuando se aplica una intensidad de campo eléctrico que da lugar a una diferencia de potencial entre ambos lados de la membrana (potencial transmembrana). Cuando esta diferencia de potencial alcanza un valor crítico determinado, que varía en función del tipo de microorganismo, origina la formación de poros irreversible en la membrana celular (electroporación) y en consecuencia la pérdida de su integridad, incremento de la permeabilidad y finalmente destrucción de la célula afectada (9).

Miller y col. (1988) encontraron que la electroporación permite la toma de ADN por las células mamarias y protoplastos de las plantas, debido a que ésta reduce la permeabilidad de la membrana celular. Estos investigadores demostraron la utilidad de la electroporación de altos voltajes para la transformación genética de células bacterianas intactas, utilizando la bacteria patógena *Campylobacter jejuni* como sistema modelo. El método involucra la exposición de células en suspensión de *Campylobacter* a un potencial exponencial de alto voltaje con una descarga de 5-13 kV/cm con tiempos de tratamiento cortos de 2,4-2,6 s en la presencia de ADN plásmido.

## 10.2 Mecanismos de inactivación

Se han propuesto varias teorías para explicar la inactivación de los microorganismos con CEPAL. Las más estudiadas son la ruptura dieléctrica y la electroporación o desprendimiento de la membranas celulares (Zimmermann y Benz, 1980; 1986; Castro y col., 1993; Sale y Hamilton, 1967; Vega Mercado y col., 1996a, b). La aplicación de campos eléctricos a células biológicas en un medio (p.e., agua) causa la formación de cargas eléctricas en la membrana celular (Schoenbach y col., 1997). La destrucción de la membrana ocurre cuando el potencial eléctrico inducido en la membrana de muchos sistemas celulares excede el valor crítico de 1 voltio, lo que corresponde a un campo eléctrico externo de aproximadamente 10 kV/cm para la bacteria *Escherichia coli* (Castro y col., 1993).



(a) membrana celular con potencial  $V_m$ , (b) compresión de la membrana, (c) formación de poros con ruptura reversible, (d) gran parte de la membrana sometida a ruptura irreversible con poros muy grandes.

### Figura 4: representación esquemática de la ruptura reversible de la membrana celular.

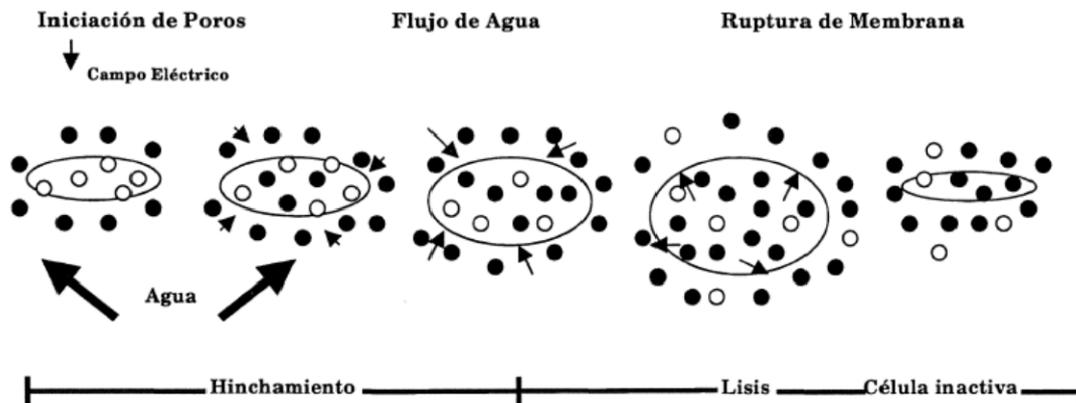
Como se muestra en la Figura 4, Zimmermann (1986) explica el mecanismo de ruptura eléctrica de la membrana celular. La membrana puede ser considerada como un condensador lleno con circuito eléctrico (Fig. 1a). El potencial eléctrico normal en ambos lados de la membrana es de aproximadamente 10 mV. La exposición de la membrana (célula) a un campo eléctrico (pulsos) como se muestra en la Fig. 1b conduce al desarrollo en ésta de un

potencial diferencial (V), promovido por la separación de cargas eléctricas a través de la membrana celular.  $V$  es proporcional al campo eléctrico (E) y al radio de la membrana. El aumento del potencial eléctrico de la membrana conlleva una reducción del espesor de la membrana celular. La ruptura de la membrana celular ocurre si el voltaje de ruptura crítico,  $V_c$  (~1 V) es alcanzado por un incremento adicional del campo eléctrico externo, E (Fig. 1e). Se supone que la ruptura es causada por la formación de poros transmembránicos (llenados con solución conductora), lo cual conduce a una descarga inmediata de la membrana y a la descomposición de ésta. La ruptura es irreversible si los poros del producto son pequeños en relación con la superficie total de la membrana. A intensidades de campo eléctrico supercríticas y largos tiempos de exposición, grandes áreas de la membrana estarán sujetas a la ruptura (Fig. 1d). Si el tamaño y el número de poros se hace mayor, en relación con la superficie total de la membrana, la ruptura reversible cambia a una ruptura irreversible, la cual está asociada con la destrucción mecánica de la membrana celular.

El otro mecanismo propuesto, la electroporación, es un fenómeno que desestabiliza temporalmente la capa lipídica y las proteínas de la membrana celular, al ser sometidas a campos eléctricos pulsantes de alto voltaje (Castro y col., 1993). El plasma de las membranas celulares se hace permeable a pequeñas moléculas, después de haber sido expuesto a un campo eléctrico, y la permeabilidad causa hinchazón y una eventual ruptura de la membrana celular como se muestra en la Fig. 2 (Vega-Mercado y col., 1996b). El principal efecto de los campos eléctricos en la membrana celular es, por lo tanto, causar permeabilidad debido a la compresión y formación de poros en ésta (Vega-Mercado et al., 1996b). Einosita y Tsong (1977a, 1979) demostraron que un campo eléctrico de 2.2 kV/cm inducía poros en eritrocitos humanos de aproximadamente 1  $\mu$ m de diámetro (Martín y col., 1995). Kinoshita y Tsong (1977a) sugirieron un mecanismo de dos pasos para la formación de los poros, en el cual el inicial es una respuesta a un potencial de campo eléctrico superior al umbral, seguido de una expansión del tamaño

del poro en el tiempo, como se indica en la Fig. 5. Se obtienen grandes poros mediante incrementos de la intensidad del campo eléctrico y la duración del pulso o reduciendo la resistencia iónica del medio de pulsación. En la membrana celular las cargas eléctricas bipolares de los lípidos, proteínas, carbohidratos, iones, y la polarizabilidad de estas

moléculas forman el campo eléctrico. Por lo tanto la electroporación ocurre en los liposomas y en las membranas celulares, pero las moléculas afectadas por el campo aplicado no son necesariamente las mismas en estos dos sistemas (Tsong, 1990).



**Figura 5. Electroporación de una membrana celular mostrando las zonas de hinchamiento, lisis e inactivación celular**

En una vesícula lipídica, los movimientos electroforéticos de iones y dipolos de agua a través de poros hidrofóbicos espontáneos pueden ser el primer paso de la electroporación; después de lo cual las moléculas se reorganizan para formar poros hidrofílicos estables. En una membrana celular esto puede ocurrir, sin embargo, también están presentes canales proteicos, poros y bombas. Estas membranas son extremadamente sensibles al campo eléctrico transmembránico (Tsong, 1990). Los potenciales de abertura a los canales constituidos por las proteínas están en el orden de los 50 mV (Castro y col., 1993).

### **10.3 Aplicaciones**

Es una de las mejores alternativas a los métodos convencionales de pasteurización, lo que hizo que se denominara pasterización fría. Su uso está limitado a productos bombeables, capaces de conducir la electricidad y exentos de microorganismos esporulados. Sin embargo, no produce ningún efecto sobre enzimas. Los alimentos más idóneos para este tratamiento son: leche, huevo líquido, zumos de frutas y concentrados, sopas y extractos de carne.

### **10.4 Necesidades de investigación**

Debido a que se trata de un nuevo método de procesamiento aún se requiere de estudio y comprensión del efecto sobre los diferentes microorganismos que ponen en riesgo la seguridad del alimento procesado. Así mismo será necesaria la difusión y promoción entre industria y consumidor de estos nuevos alimentos.

## 11.- CAMPOS MAGNÉTICOS OSCILANTES

El uso de OMF ha sido propuesto como otra de las tecnologías emergentes dentro de los procesos no térmicos en alimentos. Entre las ventajas que esta tecnología ofrece, se encuentran: mínima degradación de atributos organolépticos y nutricionales, menores requerimientos de energía que la empleada en procesos térmicos, y posibilidad de tratar el alimento dentro de empaques flexibles (POTHAKAMURY *et al.*, 1993). Existen diferentes tipos de campos magnéticos. Los campos estáticos son aquéllos cuya fuerza es constante en el tiempo, y pueden ser producidos con magnetos permanentes o con electro magnetos de corriente directa. Los OMF son generados mediante electro magnetos de corriente alterna, y su intensidad varía de manera periódica dependiendo de la frecuencia y del tipo de onda del magneto. Estos campos, generados por pulsos, son de naturaleza electromagnética asociados con un componente de campo eléctrico capaz de inducir corrientes eléctricas en sistemas biológicos estacionarios (KOVACS *et al.*, 1997). Los campos homogéneos son aquéllos cuya fuerza es constante en el espacio a cual se exponen las muestras; mientras que los campos heterogéneos presentan un gradiente que depende de la naturaleza del magneto.

La fuerza del campo magnético (H) se mide en Oers- teds, unidad definida como una línea de fuerza por cm<sup>2</sup>; mientras que la densidad de flujo magnético (B) se mide en Teslas (o Gauss). En el vacío, y para propósitos prácticos en el aire, la fuerza del campo magnético es aproximada por la densidad de flujo magnético; de manera que la fuerza del campo magnético es comúnmente especificada en unidades de Teslas o Gauss.

Con respecto a su fuerza relativa, los campos magnéticos débiles tienen intensidades del orden de decenas de Gauss, semejantes a aquéllos producidos por aparatos electrodomésticos. Los OMF de alta intensidad se encuentran en miles de Gauss y mayores.

La inactivación de microorganismos requiere el uso de OMF de alta intensidad, 5-50 Teslas (1 Tesla= 10.000 Gauss). Dichos campos pueden ser generados mediante el uso de bobinas superconductoras, bobinas que producen campos de corriente directa, y bobinas

energizadas por la descarga de energía almacenada en un capacitor.

### **11.1 Efectos sobre los microorganismos**

La transferencia de energía a los iones resulta en un incremento en la velocidad y acumulación iónica y por lo tanto en un incremento en la red de transporte de iones tales como  $\text{Ca}^{2+}$  a través de la membrana. Un incremento en el flujo de iones  $\text{Ca}^{2+}$  es frecuencia específica, mientras que los cambios inducidos en las actividades metabólicas ocurren en un rango de frecuencias.

El sitio de interacción del campo magnético es el tejido de la célula, que viene a ser el más afectado por éste. Los iones transmiten los efectos de los campos magnéticos a otros tejidos de órganos a través del sitio de interacción (Figura 6).

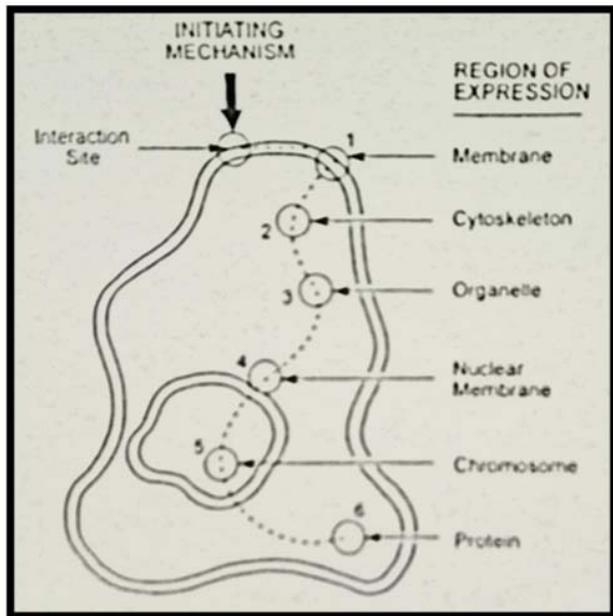


Figura 6. Cascada de respuestas en la célula expuesta a un campo magnético

## 11.2 Mecanismos de inactivación

Los mecanismos de inactivación de células colocadas en campos magnéticos oscilantes. Un campo magnético oscilante débil puede debilitar los enlaces entre iones y proteínas. Muchas proteínas vitales para un metabolismo saludable contienen iones. En presencia de un campo magnético inmóvil, como el de la tierra, los efectos biológicos de los campos magnéticos oscilantes son más pronunciados alrededor de frecuencias particulares, tales como la frecuencia de resonancia del ciclotrón de iones. A una resonancia de ciclotrón, la energía es transferida selectivamente del campo magnético al ion con una girofrecuencia equivalente a la frecuencia del campo magnético. El sitio de interacción del campo magnético es el tejido de la célula, que viene a ser el más afectado por éste. Los iones transmiten los efectos de los campos magnéticos a otros tejidos de órganos a través del sitio de interacción.

Una segunda teoría considera el efecto de los campos magnéticos estáticos y oscilantes en enlaces de iones de calcio pegados a proteínas tales como el calmodulin. Los

iones de calcio continuamente vibran alrededor de una posición de equilibrio en el sitio de enlace del calmodulin. Aplicando un campo magnético inmóvil al calmodulin causa rotación y vibración del plano o procede en la dirección del campo magnético a una frecuencia que es exactamente la frecuencia del ciclotrón del enlace del calcio. Al agregar un campo magnético vibratorio a la frecuencia del ciclotrón se perturba la precisión a tal extensión que resulta en la debilitación del enlace entre el ion de calcio y el calmodulin (Pothakamury y col., 1993). La inactivación de microorganismos está basada en la teoría de los campos magnéticos oscilantes, los cuales pueden acumular la energía en partes activamente magnetizadas de grandes moléculas como las de ADN. Dentro de un intervalo de 5 a 50 T, la cantidad de energía por oscilaciones acopladas a un dipolo de ADN es de  $10^4$  a  $10^5$  eV. Con diferentes oscilaciones y ensamblaje colectivo de dipolos se obtiene suficiente activación local que puede resultar en la ruptura de los enlaces covalentes de la molécula de ADN y por consiguiente en la inactivación de los microorganismos (Pothakamury y col., 1993).

### **11.3 Aplicaciones**

Los alimentos más idóneos para someterse a este proceso de conservación son: zumos, mermeladas, frutos tropicales en soluciones azucaradas, derivados cárnicos, productos cocidos, envasados y listos para su consumo.

#### **11.4 Necesidades de investigación**

- 1.- Identificar los patógenos resistentes
- 2.- Establecer los efectos en la inactivación microbiana
- 3.- Estudiar cinéticas de destrucción
- 4.- Determinar el mecanismo de acción
- 5.- Determinar los factores críticos del proceso
- 6.- Validar el proceso
- 7.- Identificar microorganismos de referencia

## **12.- CONCLUSIONES**

La industria alimentaria se encuentra en una nueva etapa de desarrollo e implementación de nuevos métodos de procesamiento de alimentos. La obtención de productos con larga vida de anaquel, mínima pérdida de componentes nutritivos sin sacrificio de la estabilidad microbiológica del alimento y sobre todo del agrado del consumidor es de suma importancia para el éxito de los métodos no térmicos de procesamiento de alimentos. Debido a que se trata de nuevos métodos de procesamiento aún se requiere de estudio y comprensión del efecto de cada método de procesamiento sobre los diferentes microorganismos que ponen en riesgo la seguridad del alimento procesado. Así mismo será necesaria la difusión y promoción entre industria y consumidor de estos nuevos alimentos.

### 13.- BIBLIOGRAFÍA

Conservación de alimentos

<http://www.aula21.net/Nutriweb/conservacion2.htm>

EROSKI CONSUMER. Tratamiento de alimentos con microondas

<http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2006/04/05/23073.php>

AGQNUTRICIÓN. Luz UV nuevas tecnologías de conservación de alimentos

<http://agqnutricion.com/2009/12/luz-uv-nuevas-tecnologas-de-conservacin-de-alimentos/>

ALIMENTARIAONLINE. Cinética de la inactivación microbiana por tecnología de luz pulsada

[http://www.alimentariaonline.com/media/MA029\\_luz.pdf](http://www.alimentariaonline.com/media/MA029_luz.pdf)

**Soliva F.** y **Martín B.** 2007, Nuevas tecnologías en la conservación de alimentos, Universitat de Lleida, Departament de Tecnologia d'Aliments.

**Artés C.** 2006, El envasado en atmosferas modificada mejora la calidad de consumo de los productos hortofrutícolas intactos o mínimamente procesados en fresco, Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C., Hermosillo, México, pp. 61-85.

**Téllez L.** 2001, Aplicación de la alta presión hidrostática en la conservación de los alimentos, Ciencia y Tecnología Alimentaria, vol., 3, numero 002, Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de Alimentos, Reynosa, México, pp. 66-68.

**González-Aguilar** 2006, Efecto de la Irradiación UV-C Sobre la Calidad de Mango Fresco Cortado, Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.

**Calderón-M** 1998, Métodos no Térmicos para Procesamiento de Alimentos: Variables e Inactivación Microbiana, Antigo de revisao.

**Rosa M.** 2006, Uso de Agentes Antimicrobianos para la Conservación de Frutas Frescas y Frescas Cortadas, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad de Lleida.

**Frutos M.** 1993, Envasado de productos alimenticios bajo atmósferas modificadas. ALIMENTACIÓN, EQUIPOS Y TECNOLOGÍA, 8, 95- 100 .

**Parry R.T.**1995, Introducción. Envasado de alimentos en atmósferas Modificadas. R.T. Parry (Ed.), pág. 13-31. A. Madrid Vicente, Ediciones, Madrid, España.

**Yahia M.** 2001, Tratamientos Físicos en Postcosecha de Frutas y Hortalizas, Preservación de la calidad, Universidad de Querétaro, Institución de Investigaciones Agrícolas.

**Salcido N.** 2010, Inocuidad y Bioconservación de Alimentos, Acta Universitaria, Vol. 20, Núm. 1, pp. 43-52 Universidad de Guanajuato México, Redalyc, Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal.

**De Ancos B.** 2006, Nuevos Sistemas Emergentes de Higienización en el Procesado Mínimo de Alimentos Vegetales, I Simposio Ibero-Americano de Vegetales Frescos Cortados, San Pedro, SP Brasil.

**Romero de A.** 2006, Innovaciones en el Procesado de Alimentos: Tecnologías no Térmicas, RED MED UNIV NAVARRA, vol. 50 numero 4, pp. 71-74.

**Aguar S.** 2007, Efecto de los Campos Magnéticos en la Conservación de la Leche Cruda sin Refrigerar, REDVET. Revista electrónica de Veterinaria 1695-7504, Volumen VIII, Número 4,

**Fernández M.** 2001, Tecnologías Emergentes para la Conservación de Alimentos sin Calor, Arbor CLXVIII, 661, pp. 155-170.