

Tecnologías no térmicas en el procesamiento y conservación de alimentos vegetales. Una revisión

Non thermal technologies in the processing and conservation of vegetable foods. A review

Ronald Soleno Wilches ¹

DOI: <http://dx.doi.org/10.23850/24220582.172>

Fecha de recibo:03-08-2015 Fecha de aceptación 27-11-2015

RESUMEN

Durante las tres últimas décadas se ha hecho evidente una mayor preocupación por parte de los consumidores en la escala global respecto a la calidad e inocuidad de los alimentos que ofrece el mercado. En ese sentido, se denota una tendencia marcada hacia la búsqueda de productos saludables y/o que no representen riesgos significativos para la salud, y que además de ello ofrezcan una mayor frescura y practicidad a la hora de su consumo. En respuesta a esto, en un principio surgieron iniciativas orientadas a suprimir el uso de aditivos y conservantes, la mayoría basadas en procesos térmicos (pasteurización, esterilización, congelación, etc.), que si bien logran alargar la vida útil, inciden de manera directa sobre las características iniciales de los productos (frescura, textura, contenido de nutrientes, color, entre otros). En consecuencia se puso foco en la investigación y desarrollo de tecnologías de conservación que lograran mantener al máximo las propiedades naturales de los alimentos. En el caso particular de las frutas y hortalizas aparece el procesamiento mínimo, que combina la utilización de materiales plásticos como barrera, atmósferas modificadas (pasivas y activas), y almacenamiento refrigerado. Esta tecnología permite la obtención de productos frescos (cortados o no), pero con un periodo de vida útil limitado (7-15 días). Los avances recientes en el campo se enfocan en la utilización de tecnologías no térmicas, que logren conservar las características iniciales y la inocuidad de los productos vegetales durante un mayor periodo de tiempo, aunque también se han realizado avances en el desarrollo de tecnologías térmicas que reduzcan los efectos negativos sobre los productos tratados. Dentro de las tecnologías no térmicas se destacan los campos eléctricos pulsantes, ultrasonidos, las altas presiones hidrostáticas, irradiación, campos magnéticos oscilantes, plasma frío, luz blanca de alta intensidad, entre otros. El presente trabajo de revisión tiene como propósito el estudio de este tipo de tecnologías, poniendo énfasis en los principios básicos y su utilidad en el procesamiento de alimentos vegetales.

Palabras clave: alimentos; tecnologías de conservación; métodos no térmicos; frutas y hortalizas.

ABSTRACT

During the last three decades a greater concern for consumers in the global scale regarding the quality and safety of food offered by the market has become more evident. In that sense, a marked trend towards finding healthy products and / or those that do not represent significant risks to health and moreover provide more freshness and convenience when consumption. In response, initially initiatives to eliminate the use of additives and preservatives emerged, mostly based on thermal processes (pasteurization, sterilization, freezing, etc.), that achieved to lengthen shelf life, but have direct impact on initial product characteristics (freshness, texture, nutrient content, color, etc.). In consequence focus was placed on research and development of conservation technologies they were able to keep most of the natural properties of food. The minimum processing that combines the use of plastics as a barrier, modified atmosphere (passive and active), and cold storage is the particular case of fruits and vegetables. This technology allows the production of fresh product (cut or not), but with a limited useful life period (7-15 days). Recent advances in the field are focused on the use of non-thermal technologies that are able to maintain the initial characteristics and safety of plant products for a longer period of time, although there has been progress in developing thermal technologies that reduce the negative effects on the treated products. Within the non-thermal technologies include pulsating electric fields, ultrasounds, high hydrostatic pressures, irradiation, oscillating magnetic fields, cold plasma, high-intensity white light, among others. The present review aims to study these technologies, with emphasis on the basic principles and their use in vegetal food processing.

Key words: Food; Conservation technologies; Non-thermal; fruits and vegetables; Food processing.

¹ Colombiano. PhD. en Ciencias Agropecuarias, Investigador Asociado SENA, Grupo de Investigaciones en Ciencias & Tecnologías Agroindustriales-GICTACAB, Centro Agropecuario de Buga. Guadalajara de Buga, Colombia. correo electrónico: sronald@sena.edu.co

INTRODUCCIÓN

Durante las tres últimas décadas se ha hecho evidente una mayor preocupación por parte de los consumidores en la escala global, respecto a la calidad e inocuidad de los alimentos que ofrece el mercado. En ese sentido, se denota una tendencia marcada hacia la búsqueda de productos saludables y/o que no representen riesgos significativos para la salud, y que además de esto ofrezcan una mayor frescura y practicidad a la hora de su consumo y/o elaboración en el hogar (Cano, 2001).

En consecuencia, la industria agroalimentaria ha tenido como desafío la generación de tecnologías de conservación que permitan ofrecer alimentos con una buena calidad sanitaria, cuyas características iniciales se mantengan al máximo posible y que puedan ser consumidos de manera directa como producto fresco o bien acorten los procesos de elaboración, una vez sacados del empaque. Bajo estos principios surgen los Alimentos Mínimamente Procesados (AMP), los cuales combinan frescura y practicidad, siendo empacados y comercializados como los procesados. De esta forma, las frutas y hortalizas mínimamente procesadas o de la IV gama, son aquellas en cuya elaboración se incluyen las operaciones convencionales de selección, clasificación, lavado, pelado (opcional), cortado (opcional), desinfección, secado y empaque, y que por lo general se transportan y comercializan a baja temperatura (Carbonell, 1990; Wiley, 1997; Cano, 2001).

Uno de los principales inconvenientes que presenta este tipo de productos está relacionado con la disminución de su vida útil, dado que las operaciones de pelado y corte (cuando ello sucede), influyen de manera directa en el aumento de la tasa de respiración del producto, generan la producción de exudados, aumentan el riesgo de contaminación microbiana, se aceleran los procesos oxidativos, entre otros. Todo ello implica la necesidad de combinar distintos métodos de conservación que permitan alargar la duración del producto. Con ese propósito, se ha incluido la utilización de agentes antimicrobianos y antioxidantes en el agua de lavado, así como el empaque aséptico en condiciones que permitan el alargamiento de la vida útil (Cano, 2001).

También se destaca la aparición de la tecnología de envasado en atmósferas modificadas (AM), que a través de la utilización de una mezcla de gases (generalmente enriquecida en CO₂ y N₂ y reducida en O₂) que es inyectada al interior del empaque, busca frenar los procesos degradativos (Cano, 2001). Para ello, el material de empaque resulta fundamental, siendo notable el desarrollo de películas inteligentes, de permeabilidad

selectiva, que presenten barrera a la luz y protejan de manera efectiva el producto. Así, por ejemplo, destaca la utilización del cloruro de polivinilo (PVC), polietileno (PE), polipropileno (PP), politereftalato de etileno (PET), entre otros desarrollos más recientes que incluyen la utilización de empaques biodegradables (Artés, 2000b). No obstante, en todos los adelantos que se han realizado, los productos vegetales de este tipo presentan un periodo de vida útil relativamente corto, en comparación a los sometidos a procesos tradicionales de elaboración (pasteurizados, esterilizados, congelados), siendo generalmente de 7 a 15 días en almacenamiento refrigerado (Artés, 2000a).

Para solventar este inconveniente, una de las alternativas que destacan tienen que ver con la aparición de los productos de la V gama, generalmente asociados a la utilización del método *sousvide* (“bajo vacío”, en idioma francés), que implica el empaque al vacío de los vegetales (frescos o preparados); esta técnica se utiliza en la conservación de hortalizas y poco en frutas; posteriormente se sometió a un proceso de pasteurización suave, que si bien afectó la apariencia y frescura, permitió conservar al máximo las características nutricionales, sanitarias y organolépticas de los mismos, durante un periodo más largo de tiempo (mínimo 6 semanas), dependiendo de la temperatura de almacenamiento utilizada (Tirilly y Bourgeois, 2002).

Para la elaboración de este tipo de productos, se desarrollaron métodos térmicos de cocción, pasteurización/esterilización, alternativos a los tradicionales y que involucraron, por ejemplo, el calentamiento óhmico por radiofrecuencias y microondas (Welti- Chanes y Bermúdez, 2003; Barbosa y Aguirre, 2010).

Es relevante la aparición de métodos o tecnologías de conservación no térmicas, que buscan alargar la vida útil de frutas y hortalizas, inclusive, de sus derivados (zumos, jugos, salsas, sopas, pastas, etc.). Estos buscan mantener su frescura, reduciendo el impacto sobre las características nutricionales y organolépticas, y al tiempo aseguran la inocuidad (Barbosa *et al.*, 1999). Dentro de las innovaciones que se han venido proponiendo, en el presente trabajo se centró el interés en el uso de los campos eléctricos pulsantes, ultrasonido, las altas presiones hidrostáticas, la irradiación, campos magnéticos oscilantes, luz blanca de alta intensidad y plasma frío, realizando una descripción de los principios básicos, los avances en el campo de la investigación y su utilidad en la conservación de alimentos vegetales.

Tecnologías no térmicas para la conservación de productos vegetales

• Campos eléctricos pulsantes de alta intensidad (CEPAI)

El procesamiento por campos eléctricos pulsantes involucró la aplicación de pulsos de alto voltaje por periodos cortos de tiempo (menos de 1 segundo) a alimentos líquidos (como jugos de frutas y hortalizas) colocados entre dos electrodos. Aunque la tecnología de campos eléctricos fue introducida en los años 60, los desarrollos tecnológicos han permitido renovar el interés en la misma (Qin *et al.*, 1998).

En el procesamiento de alimentos, la idea principal se enfocó en el aprovechamiento del efecto antimicrobiano para frenar los procesos deteriorativos, mientras se conservan la frescura, las propiedades sensoriales y el contenido de nutrientes (Barbosa *et al.*, 2010; Demirdöven *et al.*, 2008).

El efecto antimicrobiano se generó a través de la alteración o destrucción de la pared celular cuando se aplicó una intensidad de campo eléctrico, que dio lugar a una diferencia de potencial entre ambos lados de la membrana (potencial transmembrana). Cuando esta diferencia de potencial alcanzó un valor crítico determinado, que varió en función del tipo de microorganismo, provoca la formación de poros irreversibles en la membrana celular (electroporación), y en consecuencia la pérdida de su integridad, el incremento de la permeabilidad y finalmente, la destrucción de la célula afectada.

El uso de CEPAL está limitada a productos bombeables, capaces de conducir la electricidad y exentos de microorganismos esporulados (Chanes y Aguirre, 2003; Barbosa-Cánovas y Bermúdez-Aguirre, 2010).

Algunos autores como Chanes y Aguirre, (2003) argumentan que las enzimas también pueden verse afectadas en su movilidad y actividad, llegando a desnaturalizarse, y que además se pueden inducir a la asociación y disociación de grupos ionizables o modificar completamente la forma de la proteína (Yeom *et al.*, 2002). En efecto, existen diversos estudios en los que se evaluó la inactivación de enzimas con CEPAL, como es el caso de la inactivación de polifenoloxidasas de diversos productos vegetales (González *et al.*, 1999; Zhong *et al.*, 2005; Mayer, 2006, Castorena-García *et al.*, 2013), papaína, (Yeom *et al.*, 1999), lipoxigenasas de jitomate (Min *et al.*, 2003), proteasas microbianas (Bendicho *et al.*, 2005) y pectinmetilesterasa en jugo de uchuvas (Pinchao, Osorio y Mejía, 2014).

En la aplicación de CEPAL, se utilizaron cámaras estáticas de flujo continuo, generalmente manipuladas en laboratorios de investigación, cámaras continuas con flujo no laminar para conseguir tratamientos homogéneos y que suelen ser usadas en plantas pilotos y a nivel industrial, y cámaras de campo eléctrico convergente, que constan de electrodos de discos separados por placas de teflón (Herrero y Romero, 2006).

El sistema de procesado utilizando CEPAL consta de varios componentes, incluyendo la fuente de potencia, banco de condensadores, interruptor, cámara de tratamiento, medidor de voltaje, temperatura, corriente, y por último, equipo de envasado aséptico (Qin *et al.*, 1998, Herrero y Romero, 2006).

La fuente de potencia se utilizó para cargar el banco de condensadores, y un interruptor se empleó para la descarga de la energía almacenada en el banco a través del alimento en la cámara de tratamiento. El alimento puede estar en una cámara estática o se puede bombear a través de una cámara continua. La cámara de tratamiento estática se utilizó en el laboratorio, mientras que a escala industrial se empleó la cámara continua. El alimento una vez tratado se envasó asépticamente y se almacenó a temperatura de refrigeración. Uno de los componentes importantes y complicado en el sistema de procesado es la cámara de tratamiento, existiendo diversos diseños de las mismas tanto estáticas como continuas (Barbosa-Cánovas *et al.*, 1999; Sosa, 2006).

Además de la aplicación de esta tecnología en la pasteurización de zumos y jugos de fruta, también se utilizó para la alargar la vida útil de huevos líquidos, mejorar los procesos de marinado y salazón, mejorar de calidad de los mostos, al reducir el tiempo de maceración, e incrementar el color de los vinos, extraer colorantes alimentarios, entre otras (Morris *et al.*, 2007).

• Ultrasonido (US)

El ultrasonido se conforma de ondas sonoras que resultan inaudibles para el hombre por su elevada frecuencia. Esta tecnología se utilizó para producir energía por dichas ondas, con al menos 20.000 vibraciones por segundo (Mason, 1990), para lograr un efecto bactericida sobre los microorganismos e inactivación enzimática por rompimiento celular (Morris *et al.*, 2007).

Al atravesar los medios líquidos, el ultrasonido generó ciclos alternativos de compresión y expansión y, como consecuencia, la aparición de burbujas de gas en la masa del líquido. En sucesivos ciclos, las burbujas crecen, alcanzan un tamaño crítico y, al superarlo, implosionan. Al chocar entre sí las moléculas del líquido se producen

ondas de presión que se transmiten por el medio, inactivando a las bacterias y disgregando la materia en suspensión. Aunque el efecto de este fenómeno, denominado cavitación, se conoce desde hace mucho tiempo, su utilidad es muy limitada por la insuficiente eficacia del proceso en las condiciones habituales de tratamiento (presión y temperatura ambiente) (Parzanese, s/f; Hurtado, 2013).

Los factores claves para la inactivación microbiana incluyen la amplitud de la onda; el tipo, la exposición y el tiempo de contacto de los microorganismos; y la composición y volumen de alimentos a procesar. Las ondas actúan sobre la membrana celular afectando su permeabilidad. El método se utilizó en el tratamiento de frutas como ciruelas, uvas y mango, y se puede mejorar la estabilidad de los jugos, reduciendo la sedimentación (Morris *et al.*, 2007).

Según Robles *et al.*, (2012), el método puede ser útil para un procesamiento mínimo de alimentos, debido a que la transferencia de energía acústica al producto alimenticio es instantánea y a través de todo el volumen del mismo. Esto significó una reducción del tiempo total de procesamiento, mayor rendimiento y menor consumo de energía.

En el caso de alimentos mínimamente procesados se estudió el efecto de US combinado con agentes desinfectantes (agua clorada), en la descontaminación microbiana de frutas y hortalizas (Seymour *et al.*, 2002). También se investigó el efecto combinado de productos químicos desinfectantes con calor y US para eliminar *Salmonella* y *E. coli*, observándose una mejora en la eficiencia del producto químico, contribuyendo al aumento de la letalidad.

El efecto de los ultrasonido sobre los agentes alterantes de los alimentos es limitado y dependiente de múltiples factores, por ello, su aplicación se encaminó hacia la combinación, simultánea o alterna, con otras técnicas de conservación (Chemat *et al.*, 2004). La aplicación de ultrasonido y tratamientos térmicos suaves (entre 50 y 60°C) ha dado lugar al procedimiento denominado termoultrasonificación. La combinación con incrementos de presión (< 600 MPa) se denominó manosonicación, mientras que las tres estrategias de forma conjunta se conocen como manotermosonicación (Robles-Ozuna y Ochoa-Martínez, 2012).

“La manosonicación y la manotermosonicación son particularmente eficaces en la esterilización de mermeladas, huevo líquido, y en general, para prolongar la vida útil de alimentos líquidos. La ultrasonificación

de forma aislada es eficaz en la descontaminación de vegetales crudos sumergidos en medios líquidos” (Herrero y Romero de Ávila, 2006: 73).

Parzanese (s/f), indicó que la exposición prolongada a ultrasonido se demostró al inhibir la acción de algunas enzimas como la peroxidasa y la pepsina, debidas probablemente a la desnaturalización de las proteínas por efecto de la cavitación. Sin embargo, algunos estudios han demostrado efectos contrarios después de tratamientos cortos de US, quizá como consecuencia del rompimiento de agregados celulares o moleculares que hacen que la enzima esté más dispuesta para la reacción.

Según lo indican Herrero y Romero de Ávila (2006), existen equipos de ultrasonido de funcionamiento discontinuo o continuo, presentando ambos una cámara de tratamiento donde se sitúa la fuente de ultrasonido (generalmente una sonda de sonicación). El método, por lo general aprovechó dos propiedades que poseen ciertos materiales; la piezoelectricidad y la magnetoestricción. Un generador de ultrasonido piezoeléctrico se basó en la generación de oscilaciones eléctricas, de una frecuencia determinada, que un material con propiedades piezoeléctricas transforma en oscilaciones mecánicas (transductor). Otro método para producir vibraciones ultrasónicas es mediante el uso de transductores magneto estrictivos. El funcionamiento de estos dispositivos se basó en las deformaciones mecánicas que experimentan ciertos materiales al someterlos a un intenso campo magnético (Herrero y Romero de Ávila, 2006).

La conservación por ultrasonido es una técnica rápida respecto a otras técnicas aplicadas en la industria de alimentos, además, el uso de ondas de alta frecuencia y baja intensidad en contacto con alimentos en diversas aplicaciones constituye una técnica no destructiva y no invasiva. Es útil para la inhibición y disminución de microorganismos termorresistentes y en aquellos alimentos que aumentan la resistencia de los microorganismos a los procesos de pasteurización (Hoover, 1997).

A nivel comercial se pueden hallar equipos de ultrasonido diseñados para ser usados en la industria alimenticia, en la limpieza de frutas y vegetales por inmersión, por ejemplo.

• Irradiación ionizante

En la industria alimentaria, el término “irradiación” se utilizó para referirse a tratamientos en los que los alimentos se exponen a la acción de radiaciones ionizantes durante un cierto tiempo (Herrero y Romero de Ávila, 2006).

En algunos países el nombre de esta tecnología se cambió

a la de “pasteurización electrónica” para una mejor aceptación por los consumidores. La técnica se reguló tanto a nivel nacional como internacional por la IAEA (International Atomic Energy Agency), la FAO y la OMS (Morehouse y Komolprasert, 2004).

En el sistema internacional, la dosis absorbida se midió en gray (Gy), siendo este equivalente a la absorción de un julio por kilogramo de masa tratada. Los tipos de fuentes de radiación ionizante más utilizadas para la irradiación de alimentos son: a) radiación gamma procedente de los radionúclidos cobalto- 60 y cesio- 137; b) rayos X generados por aparatos que funcionen con una energía nominal igual o menor a 5 MeV (Un electrónvoltio (eV) representa la variación de energía potencial que experimenta un electrón al moverse desde un punto de potencial V_a hasta un punto de potencial V_b . $1 \text{ eV} = 1,602176565 \times 10^{-19} \text{ J}$; $1 \text{ MeV} = 10^6 \text{ eV}$), (Morris *et al.*, 2007; Huesca-Espitia *et al.*, 2014); c) electrones acelerados generados por aparatos que funcionen con una energía nominal igual o menor a 10 MeV (Morris *et al.*, 2007; Huesca-Espitia *et al.*, 2014).

Los tratamientos pueden clasificarse, según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2005), y de acuerdo con la dosis media absorbida como: a) dosis baja (hasta 1 kGy), usada para retardar procesos biológicos (maduración y senescencia) de frutas frescas y hortalizas, así como para eliminar insectos y parásitos en diversos alimentos; b) dosis media (hasta 10 kGy), usada para reducir microorganismos patógenos y alterantes de diferentes alimentos, así como para mejorar propiedades tecnológicas de los alimentos; c) dosis alta (superior a 10 kGy), para la esterilización comercial (generalmente en combinación con tratamientos térmicos suaves) de diversos alimentos en casos especiales (por ejemplo, dietas hospitalarias para inmunodeficientes y alimentos para astronautas, etc.) (Herrero y Romero de Ávila, 2006; Gálvez-Ruiz y Buitimea-Cantúa, s/f).

Este tipo de tratamientos puede producir un “efecto primario”, derivado de la ruptura y pérdida de estabilidad de los átomos y/o moléculas, que conduce a la formación de iones y radicales libres y un “efecto secundario” derivado de la combinación y dimerización de los iones y radicales libres formados para dar lugar a nuevas moléculas o compuestos. El efecto conjunto (primario más secundario) se denominó “radiólisis” y a los nuevos compuestos resultantes, “productos radiolíticos”. En diversas investigaciones se puso en evidencia que cuando la dosis absorbida es $\leq 10 \text{ kGy}$ la formación de compuestos radiolíticos no supone riesgo para la salud (Herrero y Romero de Ávila, 2006; Morris *et al.*, 2007). Herrero y Romero de Ávila (2006) manifestaron que la radiólisis induce alteraciones del DNA y formación de

radicales a partir de las moléculas de agua con elevado potencial reductor y oxidante, resultando ambos hechos fundamentales para explicar el efecto conservante de este tratamiento.

Desde la década de 1990 más de 40 países han establecido instalaciones seguras y apropiadas para la irradiación de alimentos (Molins, 2001; Barbosa-Cánovas y Bermúdez-Aguirre, 2009), las cuales están sujetas a las mismas normas de seguridad que cualquier otra que utilice radiaciones ionizantes. Las instalaciones pueden ser de funcionamiento continuo o discontinuo. En cualquier caso, el habitáculo de tratamiento estará construido con material de elevada densidad, que asegure el blindaje de la estructura y diseñado de tal forma que garantice el aislamiento del entorno. El empleo de fuentes mecánicas alimentadas por corriente eléctrica (como aceleradores de electrones) permitió la conexión y desconexión automática del equipo. Sin embargo, la utilización de radiación gamma procedente de radionúclidos (cobalto 60 o cesio 137), supone el manejo de una fuente constante de emisión de radiación, que requiere un recinto o fosa de confinamiento cuando no está en uso. Dependiendo del tipo de instalación, una cinta transportadora es útil para colocar el alimento en la zona de tratamiento. El tiempo de permanencia del alimento dentro de la cámara permite ajustar la dosis de energía absorbida a los efectos requeridos (Herrero y Romero de Ávila, 2006, p.73).

• Altas presiones hidrostáticas (APH)

Es un método no térmico de procesamiento de alimentos relativamente nuevo, (desde el año 2000 se empezó a implementar con éxito en la industria alimentaria), en productos tanto sólidos como líquidos a presiones entre 300 y 900MPa (Considine *et al.*, 2008). Autores como Hoover (1997) y Knorr (2000), consideran a la APH como la técnica más viable desde el punto de vista comercial. Por su parte, Meyer *et al.*, (2000) afirmaron que de todos los métodos alternativos solo se demostró la efectividad de la APH en la inactivación de esporas y enzimas. La APH provocó la inactivación de las células microbianas sin alterar la calidad sensorial ni los nutrientes de los alimentos (Cheftel, 1995). El efecto de la alta presión sobre la viabilidad de los microorganismos es una combinación de varias acciones (Farr, 1990): cambios en la morfología de la célula, que son reversibles a bajas presiones (300 MPa); desnaturalización de proteínas a presiones altas, debido al desdoblamiento de las cadenas peptídicas; modificaciones que afectan a la permeabilidad de la membrana celular.

El tratamiento con APH evitó la deformación de los alimentos debido a que la presión se transmitió uniforme e instantáneamente, es decir, no hay gradientes (cumple

la denominada regla isostática). A diferencia de lo que ocurre con los procesos térmicos, el tratamiento APH es independiente del volumen y de la forma de la muestra, con lo que se reduce el tiempo requerido para procesar grandes cantidades de alimento (Cheftel, 1995; Pothakamury *et al.*, 1995). No se produjo deterioro de nutrientes termolábiles como por ejemplo vitaminas (no se destruyó la vitamina C en los zumos, frente a los métodos tradicionales de pasterización), ni se alteraron otros compuestos de bajo peso molecular, fundamentalmente aquellos responsables del aroma y sabor. No se alteró el sabor natural, ni la coloración del alimento, pues las altas presiones no favorecen la reacción de Maillard o de pardeamiento no enzimático (Hayashi, 1989). No se produjeron residuos y no se precisó de la incorporación de aditivos al alimento. Tiene poco gasto energético; por ejemplo, para calentar 1 litro de agua a 30°C se necesita la misma energía que para presurizar a 400 MPa ese mismo volumen de agua (Tellez-Luis *et al.*, 2009, p. 67).

Como desventaja se debe mencionar el alto costo del equipo, además, con los equipos de APH disponibles hasta ahora en el mercado no se pueden diseñar procesos continuos, aunque sí hay algunos discontinuos que operan en línea (ejemplo: zumos de frutas).

Se destacó el planteamiento de Tellez-Luis *et al.* (2009), respecto a que, aunque en la mayoría de los alimentos tratados con APH, las características sensoriales mejoran o no sufren modificaciones, en algunos casos (frutas y verduras de consistencia blanda, por ejemplo) se pueden presentar alteraciones, incluso, indeseables. De esta forma, la influencia de la APH sobre las características organolépticas, depende del tipo de alimento y de las condiciones de presurización.

En algunos trabajos (Cheftel *et al.*, 1995) se describen algunas aplicaciones para distintos grupos de alimentos, siendo útil para la pasterización y esterilización sin modificar el valor nutritivo ni las propiedades organolépticas de los alimentos, en la inactivación/activación de enzimas para retardar/acelerar procesos de maduración, fermentación u otro tipo de transformaciones enzimáticas deseables en los alimentos. Además se destacó su uso en la modificación de la estructura debido a cambios en la configuración proteica: ablandamiento de textura en carnes y pescados, decoloración de hemoglobina en sangre de animales, inactivación de ciertas toxinas. Asimismo, para inducir cambios en las transiciones de fase (congelación a temperaturas bajo cero, evitando la formación de cristales de hielo, disminución del punto de fusión de lípidos, gelatinización a bajas temperaturas). Otra aplicación conocida es en la extracción de componentes alimentarios (pectinas, pigmentos, e incluso

agua) y la agregación de sólidos o polvos alimentarios para elaborarlos en forma de barras, cubos, tabletas.

La APH impide el pardeamiento no enzimático en determinados alimentos, no favorece la reacción de Maillard, y además evita la oxidación lipídica en ciertos productos (Tellez *et al.*, 2009).

Desde el año 2009, y según sostienen Barbosa-Cánovas y Bermúdez-Aguirre (2010), empezó a implementarse el uso de la APH en combinación con el calor, como una alternativa para la esterilización de alimentos, adoptando el nombre de “Pressure Assisted Thermal Sterilization (PATS)” o “Pressure Assisted Thermal Processing (PATP)”, permitiendo de esta forma mejorar la eficacia en la inactivación de microorganismos esporulados.

• Campos magnéticos oscilantes (CMO)

La primera referencia que se tiene respecto al uso de esta tecnología para inactivar microorganismos contempló la utilización de los CMO en la conservación de productos alimenticios.

Según argumenta Pérez (2001), para que un alimento se pueda conservar usando CMO, debe poseer una resistividad eléctrica alta (> 25 ohmios/cm). La intensidad del campo magnético a utilizar dependió de la resistividad y el espesor del alimento o muestra de productos alimenticios a tratar. Aquellos que presentan baja resistividad y mayores espesores requieren campos magnéticos más potentes.

Es importante anotar que la aplicación en productos alimenticios, precisó el empaque hermético en bolsas plásticas, para luego ser sometidos a 1-100 pulsos en un CMO con una frecuencia de 5 a 500 KHz, y una temperatura de 0-50°C, con un tiempo total de exposición de 25 ms a 10 ms (Morris, Brody y Wicker, 2007; Barbosa-Cánovas *et al.*, 2010). Los CMO actúan alterando la velocidad de división celular de los microorganismos por efecto del cambio del flujo iónico a través de la membrana plasmática (Fernández *et al.*, 2001).

Si bien es apreciable un aumento de la temperatura en los productos tratados (2-5°C), el impacto sobre las propiedades organolépticas suele ser poco perceptible, además se consideró un método seguro (Fernández *et al.*, 2001).

• Luz blanca de alta intensidad

La luz blanca de alta intensidad (Marquenie *et al.*, 2003), es una técnica para descontaminar superficies, inactivando microorganismos a través de pulsos cortos de tiempo, intensos y de amplio espectro, ricos en luz UV-C (es la porción del espectro electromagnético

correspondiente a la banda entre 200 y 280 nm). La luz blanca de alta intensidad se produce utilizando tecnologías que multiplican la potencia. Es una de las tecnologías emergentes que se utilizó para la sustitución de la pasteurización térmica tradicional a través de procesos no térmicos (Heinz *et al.*, 2002). Tiene como objetivo reducir las plagas, microorganismos alterantes y patógenos de los alimentos sin afectar mayormente su calidad (Banco *et al.*, 1990). En la literatura científica también se conoce como luz ultravioleta pulsada (Sharma y Demirci, 2003), luz pulsada de alta intensidad y amplio espectro (Roberts y Hope, 2003) y luz pulsada (Rowan *et al.*, 1999). El tratamiento con luz blanca pulsada se describió como una técnica de esterilización o descontaminación que se utilizó principalmente para inactivar microorganismos en la superficie de los alimentos, así como material de embalaje y equipos. Esta técnica utilizó energía luminosa en forma concentrada y expone el sustrato a intensas ráfagas cortas de la luz (pulsos). La luz ultravioleta, la luz blanca de amplio espectro y la luz de infrarrojo cercano pueden ser utilizadas (Green *et al.*, 2005) para el tratamiento de productos alimenticios.

Si bien las aplicaciones más conocidas de este método han sido en filetes y porciones de carne, pollo, salchichas, pescado y gambas, recientemente se han desarrollado investigaciones para el tratamiento de frutas y hortalizas, así por ejemplo se pueden mencionar los trabajos de Chordi Barrufet (2013) y Ramos-Villarroel *et al.* (2013).

• Plasma frío

Los plasmas fríos, resultan adecuados para el tratamiento de materiales sensibles al calor. Estos plasmas “no térmicos” se generan mediante la aplicación de un campo eléctrico o electromagnético a un gas, en el que los electrones libres toman la energía del campo, lo que produce su aceleración hasta que sus energías se elevan lo suficiente para ionizar los átomos o las moléculas del gas con las que colisionan, liberando más electrones que provocan a su vez nuevas ionizaciones. Los electrones liberados en dicho proceso producen disociación molecular, formándose átomos y radicales libres, siendo capaces de excitar átomos y moléculas a niveles superiores de energía que, al retornar al estado más estable, emiten el exceso de energía en forma de radiaciones electromagnéticas de amplio espectro, incluyendo radiaciones en el rango ultravioleta. En consecuencia, el plasma está constituido básicamente por moléculas y átomos en estado o no de excitación, iones positivos y negativos, radicales libres, electrones y radiación ultravioleta y, en presencia de gases como el oxígeno y el nitrógeno, en esta mezcla también están presentes especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, tales como ozono, radicales hidroxilo, oxígeno atómico, óxido nítrico, dióxido de nitrógeno, con capacidad de

inactivar una amplia gama de microorganismos, incluyendo bacterias, mohos, levaduras, esporas e incluso virus, priones y parásitos (Hayashi *et al.*, 2013; Alkawareek *et al.*, 2014).

Aunque la posibilidad de utilizar las propiedades esterilizantes del plasma se señaló por primera vez a finales de los años 60, su empleo ha estado alejado de la industria alimentaria, ya que solo se podían conseguir plasmas fríos en condiciones de vacío y a pequeña escala, resultando además de costoso, difícil de implementar a nivel industrial. Sin embargo, los avances tecnológicos en las fuentes de generación de plasmas, como consecuencia de su utilización en otras actividades industriales, permitieron, a finales de los años 90, desarrollar equipos capaces de generar plasmas a presión atmosférica (de ahí el nombre de Plasma Atmosférico no Térmico), permitiendo el tratamiento en continuo, con equipos sencillos y baratos, haciendo el proceso práctico y no costoso.

Esta tecnología permite tiempos de tratamiento cortos, siendo posible conseguir más de 5 reducciones logarítmicas en el número de microorganismos patógenos viables (*Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*, entre otros), e incluso, microorganismos esporulados, como *Bacillus cereus* y *Bacillus subtilis*, en tiempos realmente cortos, entre 30 segundos y 2 minutos (Alkawareek *et al.*, 2014; Ziuzina *et al.*, 2014). El hecho de que esta técnica resulte eficaz a temperatura ambiente, la hace especialmente interesante para productos sensibles al calor tanto frescos como procesados. Además, su naturaleza no tóxica y la significativa reducción del consumo de agua y agentes químicos se traducen en una importante disminución de efluentes, resultando beneficioso, no solo desde un punto de vista económico, sino también ambiental.

El grado de inactivación microbiana conseguido aumenta con la energía aportada (Gweon *et al.*, 2009; Song *et al.*, 2009), el contenido en humedad y la velocidad de flujo (Liu *et al.*, 2008) del gas empleado, así como con la presencia de oxígeno en el gas o mezcla de gases usados (Gweon *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2011; Surowsky *et al.*, 2014).

En alimentos, estos tratamientos pueden aplicarse directa o indirectamente, en función de la distancia existente entre este y el punto de generación de plasma. En los tratamientos directos, el alimento se localizó físicamente en el campo donde se generó el plasma y entró en contacto con todas las especies reactivas formadas, produciéndose una inactivación más rápida que en un tratamiento indirecto, en el que el plasma se generó a una cierta distancia del producto y, en estas condiciones, solo accederían las especies reactivas con una larga vida (Liu *et al.*, 2008).

Otros métodos de conservación no térmicos

Otros métodos que es preciso destacar, sobre todo en el procesado mínimo de frutas y hortalizas, tienen que ver con la sustitución de agentes antimicrobianos artificiales por aquellos de origen natural (López-Malo *et al.*, 2006). Dentro de los antimicrobianos naturales, se resaltó la utilización de aquellos provenientes de especias, hierbas, plantas o extractos (fenólicos, aceites esenciales, ácidos orgánicos, flavonoides, alcaloides, glucósidos, etc.), de origen animal (lisozima, lactoperoxidasa, lactoferrina, etc.) o de microorganismos (nisina, pediocina y otros bacteriocinas) (Alzamora *et al.*, 2003; Ávila-Sosa y López-Malo, 2008).

En el procesado mínimo, el uso de agentes antimicrobianos generalmente se combinó con el empacado en atmósferas modificadas (pasivas o activas) y el almacenamiento refrigerado, de manera que se logre alargar la vida útil. Uno de los aspectos que pueden resultar problemáticos en relación a este método, tiene que ver con la incidencia de dichos agentes sobre las características sensoriales del producto tratado, especialmente cuando se trata de aceites esenciales (Raybaudi-Massilia *et al.*, 2012)

Una estrategia en la que se ha venido trabajando, se centra en la incorporación de estos agentes a películas y recubrimientos comestibles en concentraciones mínimas, que permitan la inactivación de la microbiota predominante, al tiempo que se reducen los procesos degradativos asociados a la pérdida de humedad (Quintero *et al.*, 2010).

Por otro lado, se han venido utilizando algunos agentes químicos, dentro de los cuales vale la pena mencionar el uso del ozono, CO₂ supercrítico, antioxidantes, polímeros policationicos, enzimas, entre otros (Welti-Chanes y Bermúdez Aguirre, 2003). Asimismo se mencionan las técnicas avanzadas de oxidación, entre los que se encuentran la generación de radicales hidroxil por combinación de luz UV y peróxido de hidrógeno, luz UV y ozono, rayos de electrones, sonólisis, la fotocatalisis con dióxido de titanio y el uso de reacciones de Fenton, todos ellos reportados como altamente eficientes en la eliminación de microorganismos (Bandala *et al.*, 2011, citado por Huesca-Espitia *et al.*, 2014).

REFLEXIONES FINALES

La investigación en tecnologías no térmicas se ha venido desarrollando en función de la demanda del consumidor por productos mínimamente procesados de alta calidad, prácticos y seguros. Los procesos no térmicos permiten extender la vida útil de los alimentos vegetales, prescindiendo del uso de aditivos y conservantes

artificiales. De esta manera se logra preservar el sabor, color, textura y las propiedades nutritivas y funcionales de los productos vegetales.

La mayoría de estas tecnologías no son eficientes por sí solas, y por lo general es recomendado su uso en combinación con métodos tradicionales y/o con otras técnicas emergentes (métodos combinados).

Uno de los principales inconvenientes de los procesos no térmicos, está relacionado con la inactivación de microorganismos esporulados; siendo en este caso la APH la que mayores avances ha logrado a través del uso de PATS.

A medida que la investigación avanza, las tecnologías de este tipo ganan terreno en la industria alimentaria, mostrando un gran potencial para la conservación de productos vegetales con una alta calidad nutricional y organoléptica.

REFERENCIAS

- Alkawareek, M.Y.; Gorman, S.P., Graham, W.G., Gilmore, B.F. (2014). *Potential cellular targets and antibacterial efficacy of atmospheric pressure non-thermal plasma*. International Journal of Antimicrobial Agents 43, pp. 154-160.
- Alzamora, S. M., López-Malo, A., Guerrero, S., Palou, E., (2003). *Plant antimicrobials combined with conventional preservatives for fruit products*, in: Natural Antimicrobials for the Minimal Processing of Foods, S. Roller, ed., Woodhead Publishing, Ltd., London, pp. 235-249.
- Artés, F. (2000a). *Productos vegetales procesados en fresco en: Aplicación del frío a los alimentos*. Editor: M. Lamúa. Editorial: Mundi Prensa. Cap. 5. pp. 127-141.
- Artés, F. (2000b). *Conservación de los productos vegetales en atmósferas modificadas*. En: Aplicación del frío en los alimentos. Editor. M. Lamúa. Ed. Mundi Prensa. Cap. 4.105-125
- Ávila-Sosa, R. y López-Malo, A. (2008). Aplicación de sustancias antimicrobianas a películas y recubrimientos comestibles. En: *Temas selectos de ingeniería de alimentos 2* (2), 4-13.
- Barbosa-Cánovas, G. V., y Bermúdez-Aguirre, D. (2010). Procesamiento no térmico de alimentos. Scientia Agropecuaria. Disponible En: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=357633694008>[Fecha de consulta: 10 de septiembre de 2015].

- Barbosa-Cánovas, G.V., Pothakamury, U.R., Palou, E., & Swanson, B.G. (1999). *Conservación no térmica de alimentos* (in Spanish). Zaragoza, Spain: Editorial Acribia, S.A.
- Bendicho, S., Marselles, F., Barbosa Canovas, G. Martín-Belloso, O. (2005). High intensity pulsed electric fields and heat treatments applied to a protease from *Bacillus subtilis*. A comparison study of multiple systems. *Journal of Food Engineering* 69, 317-323.
- Cano, P. (2001). Procesado y conservación de alimentos vegetales. *Revista Horticultura*, 150,110-114.
- Carbonell, X. (1990). La IV Gama II Parte. *Horticultura* 57, pp. 28-46.
- Castorena-García, J.H., Martínez-Montes, F.J., Robles-López, M.R., Welte-Chanes, J.S., Hernández-Sánchez, H., & Robles-de-la-Torre, R.R..(2013). Effect of electric fields on the activity of polyphenol oxidases. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 12(3), 391-400. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382013000300003&lng=es&tlng=en.
- Cheftel, J. C. (1995). Review: High-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Sci Technol. Int.* 1, 75-90.
- ChordiBarrufet, S. (2013). *Contenido fenólico y capacidad antioxidante de fresa mínimamente procesada sometida a tratamientos de conservación por pulsos de luz de alta intensidad*. (Tesis de grado). Universidad de Lleida, 44 pp.
- Considine, K.M., Kelly, A.L., Fitzgerald, G.F., Hill, C. Sleator, R.D.(2008). High-pressure processing effects on microbial food safety and food quality *FEMS Microbiol Lett* 281,1-9.
- Farr, D. (1990). High pressure technology in the food industry. *Trends Food Sci. Technol.* 1, 14-16.
- Fernández, J. J., Barbosa-Cánovas, G. V., Swanson, B. G. (2001). Tecnologías emergentes para la conservación de alimentos sin calor. *Arbor*,168(661), pp. 155-170.
- Gálvez, J.C. y Buitimea, G.V. (s/f). *Uso de la radiación en la conservación de alimentos*. Recuperado de <http://www.revistauniversidad.uson.mx/revistas/22-22articulo%207.pdf>
- González, E., Ancos, B. y Cano, M. (1999). Partial characterization of polyphenol oxidase activity in raspberry fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 4068-4072.
- Green, S., Basaran, N. y Swanson, B. (2005). *Food preservation techniques*. In Zenthen, P. and Bogh-Sorenson, L. (Eds). Washington, United States of America: Woodhead Publishing House, p. 365 CRC press.
- Gweon, B., Kim, D. B., Moon, S. Y. & Choe, W. (2009). *Escherichia coli* deactivation study controlling the atmospheric pressure plasma discharge conditions. *Current Applied Physics* 9, 625-628.
- Hayashi, R. (1989). *Application of high pressure to food processing and preservation: philosophy and development*. En: Engineering and Food. 2, pp. 815-826. Spiess, W y Schubert, H. (Ed.). Elsevier Appl. Sci. London.
- Hayashi, N., Akyoshi, Y., Kobayashi, Y., Kanda, K., Ohshima, K., Goto, M. (2013). Inactivation characteristics of *Bacillus thuringiensis* spore in liquid using atmospheric torch plasma using oxygen. *Vacuum* 58,173-176.
- Heinz, V., Álvarez, I., Angersbach, A., & Knorr, D. (2002). Preservation of liquid foods by high intensity pulsed electric fields-basic concepts for food processing design. *Trends in Food Science and Technology*, 12,103-111.
- Hoover, D.G. (1997). Minimally processed fruits and vegetables: reducing microbial load by nonthermal physical treatments. *Food Technol*, 51(6), 66-71.
- Herrero, A.M., y Romero de Ávila, M.D. (2006). Innovaciones en el procesado de alimentos: Tecnologías no térmicas. *Rev. Med. Univ. Navarra*, 50(4), 71-74.
- Huesca-Espitia, L.C., Sánchez-Salas, J.L., y Bandala, E.R. (2014). Métodos para la inactivación de esporas en alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos* 8(1),48-67.
- Hurtado, S. (2013). *Efecto de la aplicación de ultrasonidos en vegetales: Impacto sobre la microbiota, textura y color de la Zanahoria (Daucus carota)*. (Tesis de grado). Universitat Politècnica de Catalunya Barcelonatech. Escola Superior D'agricultura de Barcelona.
- Knorr, D. (2000). *Process aspects of high pressure treatment of food systems*. En: Barbosa-Cánovas GV & Gould, GW, editor. Food preservation technology series.

- Innovations in Food Processing. Technomic Publishing CO. Inc., p. 13-31.
- Kim, B., Yun, H., Jung, S., Jung, Y., Jung, H., Choe, W. & Jo, Ch. (2011). Effect of atmospheric pressure plasma on inactivation of pathogens inoculated onto bacon using two different gas compositions. *Food Microbiology* 28, 9-13.
- Liu, H.; Chen, J.; Yang, L.; Zhou, Y. (2008). Long-distance oxygen plasma sterilization: effects and mechanisms. *Applied Surface Science* 254, 1815-1821.
- López-Malo, A., Palou, E., León-Cruz, R., & Alzamora, S. M. (2006). Mixtures of natural and synthetic antifungal agents. In *Advances in food mycology*, pp. 261-286.
- Mason, T.J. (1990). *Chemistry with ultrasound*. Published for the Society of Chemical Industry by Elsevier Applied Science, pp. 123 - 132.
- Mayer A. (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? a review. *Phytochemistry* 67, 2318-2331.
- Meyer R., K. Cooper, D. Knorr & Lelieveld, H. (2000). High-pressure sterilization of foods. *J. Food Technology*. 54(11), 67-72.
- Min, S.; Min, S.K.; Zhang, Q.H. (2003). Inactivation kinetics of tomato juice lipoxygenase by pulsed electric fields. *Journal of Food Science* 68, pp. 1995-2001.
- Molins, R.A.; Motarjemi, Y.; Käferstein, F.K. (2001). *Food Control*. 12, pp. 347-356.
- Morehouse K.M., & Komolprasert, V. (2004). *Irradiation of food and packaging: an overview*. In: Komolprasert V, Morehouse KM, editors. *Irradiation of food and packaging: recent developments*. Boston, Mass: American Chemical Society. pp. 1-11.
- Morris, C., Brody, A. L., & Wicker, L. (2007). Non-thermal food processing/ preservation technologies: A review with packaging implications. *Packaging Technology and Science*, 20, 275-286.
- OMS (2005). *Biotecnología moderna de los alimentos, salud y desarrollo humano: estudio basado en evidencias*. Departamento de Inocuidad Alimentaria, Ginebra, Suiza, 87 pp.
- Parzanese, M. (s/f). *Tecnologías para la industria alimentaria*. Ultrasonidos. Ficha N° 19, pp. 1-9.
- Pothakamury, U. R., Barbosa-Cánovas, G., & Swanson, B. G. (1995). *The pressure builds for better food processing*. Chem. Eng. Progress, p. 45-53.
- Pérez, B.S. (2001). *Nuevos alimentos y nuevas tecnologías emergentes de la industria alimentaria*. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia, pp. 143 - 188.
- Pinchao, Y. A., Osorio, O., & Mejía, D. (2014). Inactivación térmica de pectinmetilesterasa en jugo de uchuva (*Physalis peruviana L.*). *Información tecnológica*, 25(5), 55-64.
- Qin, B.-L., Barbosa-Cánovas, G.V., Swanson, B.G., Pedrow, P.D. y Olsen, R.G. (1998). Inactivating microorganisms using a pulsed electric field continuous treatment system. *IEEE Trans. Ind. Appl.* (34), 43-50.
- Quintero, C.; Falguera, V.; Muñoz, A. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: Importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Revista Tumbaga* 1(5), 93-118.
- Raybaudi-Massilia, R.M., Tapia, M.S., y Mosqueda-Melgar, J. (2012). *Películas y recubrimientos comestibles con efecto antimicrobiano*. Recuperado de <http://saber.ucv.ve/jspui/handle/123456789/5766>.
- Robles-Ozuna, L.E. y Ochoa-Martínez, L.A. (2012). Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 13(2), 109-122.
- Ramos-Villarreal, A.Y., Martín-Belloso, O. y Soliva-Fortuny, R. (2013). Pulsos de luz intensa: inactivación microbiana en frutas y hortalizas, CyTA - *Journal of Food*, 11(3), 234-242.
- Roberts, P. y Hope, A. (2003). Virus inactivation by high intensity broad spectrum pulsed light. *Journal of Virological Methods* 110, 61-65.
- Rowan, N. J., MacGregor, S. J., Anderson, J. G., Fouracre, R. A., McIlvaney, L. and Farish, O. (1999). Pulsed-light inactivation of food-related microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology* 65, 1312-1315.
- Sharma, R. R. y Demirci, A. (2003). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on inoculated alfalfa seeds with pulsed ultraviolet light and response surface modeling. *Journal of Food Science*, 68, 1448-1453.
- Seymour, I.J., D. Burfoot, R.L. Smith, L.A. Cox and A. Lockwood. (2002). Ultrasound decontamination of minimally processed fruits and vegetables. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 37, 547-557.

- Song, H.P., Kim, B., Choe, J.M., Jung, S., Moon, S.Y., Choe, W. y Jo, C. (2009). Evaluation of atmospheric pressure plasma to improve the safety of slice cheese and ham inoculated by 3-strain cocktail *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 26,432-436.
- Sosa, D. (2006). *Pulsos eléctricos de alta tensión para conservación de alimentos y esterilización médica*. XIV Seminario de Ing. Biomédica, Facultades de Medicina e Ingeniería, Universidad de la República Oriental del Uruguay, 6 pp.
- Surowsky, B., Fröhling, A., Gottschalk, O. & Knorr, D. (2014). Impact of cold plasma on *Citrobacter freundii* in apple juice: Inactivation kinetics and mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*, 174,63-71.
- Téllez-Luis, S. J., Ramírez, J. A., Pérez-Lamela, C., Vázquez, M. & Simal-Gándara, J. (2001). Aplicación de la alta presión hidrostática en la conservación de los alimentos, *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 3(2),66-80.
- Tirilly, Y., Bourgeois, C.M. (Coord.). (2002). *Tecnología de las hortalizas*. Acribia, Zaragoza, España, 591 pp.
- Wiley, R.C. (1997). *Frutas y Hortalizas Mínimamente Procesadas y Refrigeradas*. Acribia. España. Cap. 2: pp.15-60.
- Yeom, H.W., Zhang, Q.H. y Dunne, C.P. (1999). Inactivation of papain by pulsed electric fields in a continuous system. *Food Chemistry* 67, 53- 59.
- Yeom, H.W., Zhang, Q. H. &Chism, G. W. (2002). Inactivation of pectin methylesterase in orange juice by pulsed electric fields. *Journal of Food Science* 67, 2154-2159.
- Ziuzina, D., Patil, S., Cullen, P.J., Keener, K.M. & Bourke, P. (2014). Atmospheric cold plasma inactivation of *Escherichia coli*, *Salmonella entericaserovar Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* inoculated on fresh produce. *Food Microbiology*, 42, 109-116.
- Zhong, K., Hu, X., Guanghua, Z., Chen, F. & Liao, X. (2005). Inactivation and conformational change of horseradish peroxidase induced by pulsed electric field. *Food Chemistry*, 92,473-479.
- Wolti-Chanes, J. y Bermúdez, D. (2003). *Nuevas tendencias en el procesamiento de alimentos*. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Universidad de las Américas. Puebla. México, 20 pp.