



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

Aplicaciones de los pulsos eléctricos de alto voltaje para el procesado y conservación de alimentos.

Application of pulsed electric field for food processing and preservation.

Autor/es

Elena Martín Municio

Director/es

Javier Raso Pueyo

Facultad de
Veterinaria

2018

INDICE

1. RESUMEN.....	3
2. INTRODUCCIÓN.....	5
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	8
4. METODOLOGÍA.....	8
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	9
5.1. DEFINICIÓN.....	9
5.2. MECANISMO DE ACCIÓN.....	9
5.3. PARAMETROS DEL PROCESO.....	11
5.4. EQUIPOS.....	14
5.5. APLICACIONES.....	17
5.5.1. Pasteurización:.....	17
5.5.2. Mejorar los fenómenos de transferencia de masa.....	21
5.5.3. Facilitar los procesos de pelado y cortado de los vegetales.....	27
5.6. ASPECTOS LEGALES.....	29
6. CONCLUSIONES.....	31
7. VALORACIÓN PERSONAL.....	33
8. BIBLIOGRAFÍA.....	34

1. RESUMEN.

La creciente demanda por parte de los consumidores de alimentos mínimamente procesados y la necesidad de la industria alimentaria de utilizar sistemas de procesamiento más respetuosos con el medio ambiente ha despertado el interés en la búsqueda de tecnologías no térmicas de procesamiento. Estas técnicas, entre las que se encuentran los pulsos eléctricos de alto voltaje (PEF), se caracterizan por que con ellas se obtienen efectos similares a los que se consiguen al calentar los alimentos, pero a temperaturas inferiores a las utilizadas en el procesamiento térmico. El tratamiento mediante PEF consiste en la aplicación intermitente de voltajes elevados (en el orden de kilovoltios) durante un periodo de tiempo corto (del orden de microsegundos) a un alimento. El voltaje aplicado genera un campo eléctrico que provoca un fenómeno conocido como electroporación. La electroporación consiste en el incremento de la permeabilidad de las envolturas celulares al paso de iones y macromoléculas como consecuencia de la formación de poros en su membrana citoplasmática.

La electroporación de las células mediante la aplicación de los tratamientos PEF presenta varias aplicaciones en la industria alimentaria. El incremento de la permeabilidad de la membrana citoplasmática de los de las formas vegetativas de los microorganismos provoca su inactivación por lo que esta técnica permite pasteurizar alimentos líquidos termosensibles como los zumos de frutas a temperaturas inferiores a las que se utilizan en la pasteurización térmica. Por otro lado, el incremento de la permeabilidad de la membrana citoplasmática de las células de los tejidos vegetales facilita la extracción de componentes intracelulares de interés mejorando los rendimientos de los procesos de extracción y/o reduciendo el tiempo de extracción. Finalmente, la electroporación afecta a la textura de los alimentos vegetales facilitando el pelado y cortado de frutas y vegetales.

ABSTRACT.

Increasing consumer demand for minimally processed foods and the need of the food industry to use more environmentally friendly processing systems has sparked interest in no-thermal technologies. No-thermal technologies, like pulse electric fields (PEF), are techniques that produce similar effects than thermal technologies but without using high temperatures.

The technology of PEF consists on the application of high electric field pulse (kV) for a short time (microseconds). The applied voltage generates an electric field that causes cell electroporation. The electroporation consists on the increment of the cells permeability, to ions and molecules due to the formation of pores in the cytoplasmic membrane.

The electroporation of cells through the application of PEF treatments has several applications in the food industry. The increase in the permeability of the cytoplasmic membrane of the vegetative forms of microorganisms causes its inactivation. This is the reason because this technique allows the pasteurization of thermosensitive liquid foods such as fruit juices at temperatures lower than those used in thermal pasteurization. On the other hand, the increase of the permeability of the cytoplasmic membrane of the cells of the vegetal tissues facilitates the extraction of intracellular components of interest, improving the yields of the extraction processes with short processing times. Finally, electroporation affects the texture of vegetable foods facilitating the peeling and cutting of fruits and vegetables.

2. INTRODUCCIÓN.

El incremento de la temperatura de los alimentos es una técnica muy utilizada en la industria alimentaria para el procesado de los alimentos con distintos objetivos. Las técnicas de conservación de alimentos más utilizadas tradicionalmente para inactivar microorganismos y conseguir alimentos estables y seguros consisten en la aplicación de tratamientos térmicos, como la pasteurización o la esterilización. Por otro lado, el incremento de la temperatura se utiliza con objeto de favorecer los fenómenos de transferencia de masa que ocurren en el procesado de distintos alimentos como la extracción de azúcar de la remolacha azucarera o la eliminación del agua en los procesos de deshidratación con objeto de prolongar la vida útil de los alimentos. Finalmente, también se aumenta la temperatura con el objeto de ablandar o facilitar el pelado de frutas y hortalizas.

Los principales inconvenientes de estos tratamientos térmicos son, por un lado, los costes energéticos asociados y, por otro, los efectos negativos que tiene el calor en las características organolépticas y el valor nutritivo de los alimentos. Las nuevas necesidades de los consumidores, que demandan alimentos los más parecidos posibles a los alimentos sin procesar, con la misma frescura y sabor, pero con una mayor vida útil, y la creciente preocupación por el medio ambiente, han provocado que una gran parte de los esfuerzos de investigación en el sector de la industria alimentaria se hayan centrado en el desarrollo de nuevas técnicas de procesado que no provoquen incrementos importantes de la temperatura de los alimentos. El objetivo del uso de estas técnicas denominadas “no térmicas” es evitar los efectos adversos que el calor tiene sobre las propiedades de los alimentos y reducir los requerimientos energéticos siendo más respetuosas con el medio ambiente que el procesado térmico. Algunas de estas técnicas no térmicas son las altas presiones hidrostáticas (HHP), la irradiación, los pulsos de luz, los ultrasonidos, el plasma frío, o los campos eléctricos de alto voltaje (PEF). Mientras que la mayoría de estas técnicas tienen como objetivo la inactivación microbiana otros como los PEF o los ultrasonidos tienen otras aplicaciones como la mejora de la transferencia de masa

Los efectos de las altas presiones hidrostáticas (HHP) sobre los alimentos se comenzaron a investigar en el Siglo XIX, pero no es hasta la década de los 90 cuando se comienza a utilizar de forma industrial. Esta técnica consiste en la aplicación de elevadas presiones hidrostáticas entre los 100 y 1000 MPa. El objetivo principal de HHP es conseguir la inactivación de los microorganismos presentes en los alimentos, pero manteniendo las propiedades nutritivas y sensoriales de los alimentos frescos. El calentamiento de los alimentos durante el proceso es mínimo, y se aplica sobre los alimentos ya envasados, evitando de este modo posibles

contaminaciones posteriores, por tanto, dotando al producto de una mayor seguridad alimentaria. Tiene utilidad en la pasterización de alimentos sólidos y líquidos. Actualmente se utiliza en alimentos como salsas, zumos, embutidos loncheados, en la inactivación del anisakis en pescado, y en platos listos para el consumo (Butz et al., 2003; Gudbjornsdottir et al., 2010; Khan et al., 2014).

La aplicación de ultrasonidos consiste en la utilización de ondas sonoras con frecuencias superiores a los 20 kHz. Gracias a la diversidad de sistemas de ultrasonidos y las diferentes frecuencias que pueden usarse, los ultrasonidos pueden aplicarse tanto en la conservación de alimentos como en otros procesos como los fenómenos de transferencia de masa o la elaboración de emulsiones (Aliasghari Aghdam et al., 2015; Kumaria et al., 2017). La inactivación de los microorganismos por la utilización de ultrasonidos se debe a un fenómeno conocido con el nombre de "cavitación". La cavitación consiste en la formación de pequeñas burbujas de gas en líquido, que van creciendo e implosionan generando aumentos bruscos de temperatura (5000°C) y de presión (500MPa). Estos bruscos cambios de temperatura y presión producen estrés físico sobre las membranas de los microorganismos, dañándolas. Gracias a la alteración de la membrana celular y a la alteración de la estructura celular se mejoran los procesos de transferencia de masa (Kentish y Feng, 2014; Shen et al., 2017) y los procesos de extracción de componentes de interés (Awad et al., 2012; Kumari et al., 2017). Otra de las aplicaciones de los ultrasonidos en la industria alimentaria, es en la elaboración de emulsiones, gracias al proceso de cavitación se facilita la formación de la emulsión, formándose pequeñas gotas de grasa y consiguiendo así mayor estabilidad de ésta durante su conservación (Awad et al., 2012)

La aplicación de luz UV permite la eliminación de los agentes microbiológicos presentes en la superficie, tanto de los alimentos como de los envases. Afecta principalmente al material genético de los microorganismos, provocando que pierdan su capacidad reproductiva y su viabilidad. Actualmente en EE. UU. se permite el uso de esta tecnología en el procesado y envasado de alimentos, como técnica útil en la eliminación de contaminación superficial (Palgan et al., 2011; Heinrich et al., 2015).

Las radiaciones ionizantes, provienen de fuentes como los rayos X, gamma y electrones acelerados. Se utilizan niveles de energía muy bajos y no inducen radioactividad en los alimentos. Transfieren al material irradiado la energía necesaria para provocar su ionización. Tiene aplicaciones tanto para la pasterización de alimentos como para la esterilización, en alimentos sólidos y líquidos, envasados o no. El principal problema que presenta en la actualidad los alimentos irradiados es el rechazo por parte de los consumidores y la controversia que genera. Se utiliza para conseguir la esterilización de alimentos como especias y

condimentos (Mostafavi et al., 2012; Jung et al., 2015) y para la pasterización de algunos productos cárnicos listos para el consumo (Feliciano et al., 2014).

El plasma frío utiliza gases energéticos, que reaccionan con los microorganismos y los inactivan. A finales de los 90 se implementan equipos que son capaces de producir plasma frío a presiones atmosféricas y permitir un flujo de trabajo continuo. Es un proceso relativamente sencillo y que necesita cortos periodos de tratamiento, además no produce un aumento de temperatura que pueda reducir en medida alguna la calidad del alimento (Fernandez et al., 2013). Actualmente se está utilizándose para la desinfección de equipos, envases y superficies de algunos alimentos (Fernandez et al., 2013; Pankaj et al., 2014; Ziuzina et al., 2014)

Combinar las diferentes técnicas permite conseguir productos de una mejor calidad y mayor seguridad que si se utilizan de manera individual, ya que la utilización combinada de varias técnicas permite solventar los puntos débiles que presente cada técnica y potenciar los efectos positivos de éstas, como el uso conjunto de los PEF y los ultrasonidos (Gachovska et al., 2008; Antonio-Gutierrez et al., 2017)

Entre estas técnicas novedosas de procesado de los alimentos, las más utilizados a nivel de la industria alimentaria hoy en día son las HHP y en menor medida los PEF. El desarrollo de este trabajo se centrará en la tecnología PEF y en sus aplicaciones en la industria alimentaria, ya que, además de tratarse de una técnica útil para la conservación de alimentos, tiene más aplicaciones facilitando otros procesados y mejorando su eficiencia como los procesos de extracción o el pelado y cortado de frutas y hortalizas. Todo esto hace que la tecnología PEF sea una técnica con grandes perspectivas de futuro.

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Hoy en día, los consumidores demandan productos que sean seguros y con características similares a los productos frescos, además existe una creciente preocupación por el cuidado del medio ambiente. Esta nueva situación lleva a la búsqueda e investigación de nuevas técnicas de procesado de los alimentos para obtener productos seguros desde el punto de vista sanitario, que conserven sus características organolépticas (sabor, aroma...) y nutricionales y que sean más respetuosas con el medio ambiente.

Desde principios del 2000 comenzaron a comercializarse alimentos obtenidos mediante la aplicación de campos eléctricos de alto voltaje, gracias a su aplicación se consiguen alimentos con mejores características organolépticas y similares a las de los alimentos frescos, además de no perjudicar el valor nutritivo tanto como otras técnicas tradicionales. A parte de las ventajas que ofrece a nivel de la calidad del producto, supone un ahorro energético y permite disminuir los tiempos de procesado.

El objetivo de este trabajo es llevar a cabo una revisión bibliográfica sobre los fundamentos de esta técnica sus aplicaciones en la industria alimentaria, así como los aspectos legales relacionados con su implantación industrial.

4. METODOLOGÍA.

La búsqueda de la información necesaria para realizar la revisión bibliográfica se realizó a través de diferentes buscadores especializados como *pubmed* o *sciencedirect* para encontrar artículos y revisiones científicas sobre el tema. Además, también se utilizaron, capítulos específicos de libros sobre nuevas tecnologías de procesado de alimentos y textos legales actuales en referencia a los alimentos procesados por nuevas tecnologías de procesado.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. DEFINICIÓN.

La tecnología basada en la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje (PEF) consiste en la aplicación de voltajes intermitentes de alta intensidad en periodos cortos de tiempo, en el orden de microsegundos, sobre un material colocado entre dos electrodos. La intensidad del tratamiento dependerá del campo eléctrico generado que a su vez depende del voltaje aplicado y de la distancia que exista entre los electrodos.

Los campos eléctricos de alta intensidad generados por esta técnica producen cambios en la estructura de las membranas celulares, incrementando su permeabilidad. Este fenómeno conocido como electroporación. Cuando los poros que se forman en la membrana son demasiado pequeños, estos no son estables, y al finalizar el tratamiento, la célula es capaz de regenerar la membrana y recuperar su viabilidad, esto se conoce como electroporación reversible. Pero cuando aumenta la intensidad del campo aplicado, los poros que se forman en la membrana son de mayor tamaño y con mayor estabilidad, provocando que la célula sea incapaz de reparar el daño de membrana y muera (electroporación irreversible).

Gracias a la electroporación reversible, PEF tiene diversas aplicaciones en el campo de la biotecnología y medicina, siendo utilizada para introducir material genético ajeno en el interior de las células, siendo de interés en la terapia génica (Andre y Mir., 2004) o para facilitar la captación de determinados medicamentos en células tumorales (Sersa et al., 2008).

EL uso de PEF para causar una electroporación irreversible en las células es aprovechado en la industria alimentaria, este fenómeno permite aumentar la vida útil de los alimentos a través de la inactivación de los microorganismos, favorece los fenómenos de transferencia de masa en procedimientos como la extracción de aceites, y facilita los procesos de pelado y cortado de vegetales y frutas.

5.2. MECANISMO DE ACCIÓN.

Para comprender el mecanismo de electroporación provocado por la aplicación de un campo eléctrico externo es necesario considerar a la membrana citoplasmática como un aislante a la corriente eléctrica rodeado por un medio extracelular e intracelular que son buenos conductores gracias a la gran cantidad de iones que se encuentran en disolución. Por lo tanto, la membrana citoplasmática se comporta como un condensador.

Cuando las células son sometidas a un campo eléctrico, la corriente que se genera provoca que se acumulen cargas a ambos lados de la membrana, debido a que la baja conductividad

eléctrica de la membrana impide el flujo de los iones a través de ella (figura 1). Este acúmulo de cargas que se produce provoca un aumento del potencial transmembrana (Robison, 1985; Tsong 1991). Para que se manifieste la electroporación es necesario que este potencial transmembrana alcance un valor umbral. A la intensidad del campo eléctrico externo que es necesario aplicar para que se alcance este valor umbral se le denomina campo eléctrico crítico.

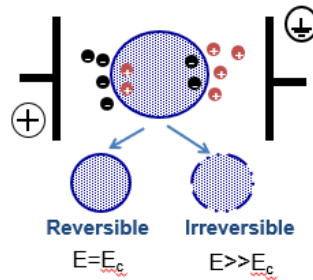


Figura 1: Esquema de la acumulación de cargas durante la aplicación de un campo eléctrico externo (Raso, 2017)

Es posible estimar cual es el valor del potencial transmembrana inducido cuando se aplica un campo eléctrico uniforme sobre una célula o una suspensión de células., mediante la ecuación de Schwan (Schwan, 1957).

$$\Delta V_i = \frac{2}{3} |E| r (\cos \theta)$$

ΔV_i hace referencia al potencial transmembrana inducido; E es el campo eléctrico; r radio de la célula; θ el ángulo desde el centro de la célula con respecto al campo eléctrico que se forma.

De esta ecuación se puede deducir que cuanto menor sea el tamaño de la célula, mayor será el campo eléctrico externo que es necesario aplicar para que se produzca la electroporación de su membrana. Se ha estimado que el campo eléctrico necesario para la electroporación de las células eucariotas, de mayor tamaño, se encuentra entre 0.1 – 7 kV/cm y en el caso de los microorganismos, de menor tamaño) se encuentra entre 10 – 40 kV/cm (Donsi et al., 2010).

Actualmente, la teoría más aceptada para explicar porque el incremento del potencial transmembrana provoca el fenómeno de electroporación asume que en una célula en reposo se produce la formación de poros en la bicapa lipídica de la membrana citoplasmática de una manera espontánea. Estos poros permiten que el agua entre al interior del citoplasma mucho más rápidamente que por simple difusión. El voltaje inducido en la membrana citoplasmática como consecuencia de la aplicación del campo eléctrico externo favorece la formación de un mayor número de poros que son más estables y numerosos que los que se forma en ausencia de un campo eléctrico externo (Glaser et al., 1988; Weaver y Chizmadzhev, 1996).

Los poros formados son tan pequeños que no se pueden observar incluso utilizando técnicas de microscopía electrónica. La principal evidencia que soporta esta teoría es que se ha demostrado la electroporación de una bicapa lipídica al aplicar un campo eléctrico externo utilizando técnicas de dinámica molecular.

5.3. PARAMETROS DEL PROCESO.

A continuación, se describen los principales parámetros que caracterizan a la tecnología de los pulsos eléctricos de alto voltaje.

Intensidad del campo eléctrico.

La intensidad del campo eléctrico (E) es la fuerza por unidad de carga que experimenta la matriz situada entre los dos electrodos. La intensidad estará definida en función del voltaje utilizado y la configuración de los electrodos.

$$E = \frac{V}{d}$$

La intensidad del campo eléctrico (E) se define como el voltaje aplicado (V) dividido por la distancia que existe entre los electrodos (d).

Cuando se trabaja con cámaras de tratamiento con configuración lineal (electrodos paralelos) la fuerza del campo eléctrico será uniforme entre los dos electrodos, mientras que si se trata de cámaras con una disposición coaxial o colineal la distribución no será igual en todos los puntos de la cámara, apareciendo así pequeñas áreas en las que la fuerza del campo eléctrico sea muy elevada. Estas zonas reciben el nombre de "hot-spots" y puede producirse un aumento de la temperatura del medio e incluso la aparición de arcos eléctricos.

La intensidad del campo eléctrico utilizada varía entre los 0,1 kV/cm y los 100 kV/cm.

La intensidad del campo eléctrico crítica (Ec) es aquella intensidad mínima necesaria para que se evidencie la electroporación de las células. La Ec dependerá del tamaño y la forma de las células, encontrándose en el rango de 1 – 2 kV/cm en células vegetales y 10 – 14 kV/cm en células microbianas.

Forma y anchura del pulso.

Dependiendo de la configuración del circuito y del tipo de interruptor, se pueden utilizar diferentes tipos de pulsos eléctricos con diferentes formas. Los más utilizados actualmente son los pulsos de onda cuadrada y los pulsos de caída exponencial.

Los pulsos de onda cuadrada se generan en circuitos con interruptores que tienen capacidad de encendido y apagado, produce un rápido incremento del voltaje y se mantiene elevado durante un periodo determinado de tiempo, después cae también rápidamente.

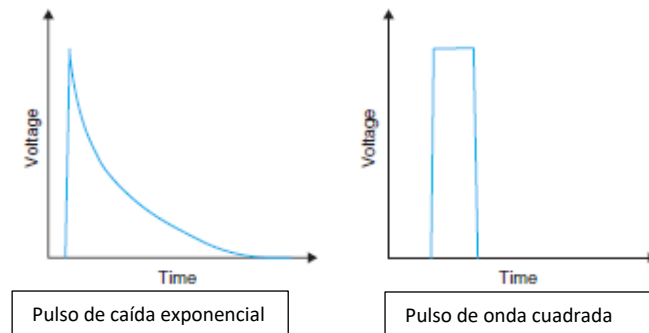


Figura 2: Pulso de caída exponencial y de onda cuadrada utilizados en los tratamientos por pulsos eléctricos de alto voltaje

En los pulsos de caída exponencial se generan en circuitos que presentan interruptores con capacidad únicamente de abrir el circuito, provocando un rápido incremento de voltaje y una posterior disminución progresiva del mismo.

En los pulsos de onda cuadrada, toda la energía usada se aplica al máximo voltaje durante el tratamiento, ejerciendo su efecto sobre las membranas celulares todo ese tiempo. A diferencia de los pulsos de caída exponencial, que, debido a la progresiva disminución del voltaje, habrá parte de la energía utilizada que no resulta efectiva para la electroporación de las células.

Ambos pulsos pueden ser bipolares o monopolares, en los bipolares se aplicará un pulso en una polaridad y otro en la contraria. Se ha observado que el uso de los pulsos bipolares podría reducir la aparición de electrolisis no deseada y reducir el acumulo de partículas procedentes de los alimentos en la superficie de los electrodos.

Para poder determinar el tiempo de tratamiento (número de pulsos x anchura de los pulsos), necesitamos calcular la anchura de los pulsos, que en el caso de los pulsos de onda cuadrada coincidirá con la duración del pulso y en los pulsos de decaimiento exponencial será el tiempo que mantiene el voltaje por encima del 37 % del voltaje máximo alcanzado.

El cálculo del tiempo de tratamiento en los pulsos de caída exponencial es algo más complejo que en los pulsos de onda cuadrada, ya que la anchura de la onda se verá condicionada por la resistencia que presente la cámara de tratamiento. Por lo tanto, la temperatura y la conductividad de la cámara de tratamiento modificaran la anchura del pulso

Tiempo de tratamiento.

El tiempo de tratamiento (t_i) es el tiempo efectivo durante el que se aplica el campo eléctrico, depende de la anchura del pulso (τ) y el número de pulsos aplicados (n) y suele medirse en μs .

$$t_i = n \times \tau$$

Energía específica.

La energía específica depende del voltaje aplicado, de la forma y anchura del pulso, y de la resistencia de la cámara de tratamiento. A su vez, la resistencia de la cámara de tratamiento dependerá de su geometría y del material a tratar.

$$W = \frac{1}{m} \int_0^{\infty} k \times E(t)^2 \times dt$$

M = masa del alimento; k = resistencia de la cámara; E = intensidad campo eléctrico; d = distancia entre electrodos.

La energía específica suele medirse en kJ/Kg, y permite la estimación de la energía utilizada en un tratamiento PEF y además permite realizar comparaciones entre otras tecnologías y el tratamiento mediante PEF en cuanto a requerimientos energéticos se refiere.

Tanto la energía específica como la intensidad del campo eléctrico y el tiempo de tratamiento son los parámetros que caracterizan los tratamientos PEF.

Frecuencia.

La frecuencia se refiere al número de pulsos por unidad de tiempo, se mide en Hz (pulsos por segundo). Las frecuencias utilizadas habitualmente en los procesos PEF varían entre 1 y 500 Hz.

Temperatura.

Existe una gran influencia de la temperatura del medio de tratamiento en la eficacia del tratamiento PEF. La temperatura afecta a la estabilidad de las membranas celulares, esto se debe a que, a temperaturas bajas, la bicapa de fosfolípidos de la membrana se presenta en estado de gel, y a medida que aumenta la temperatura del medio se produce un cambio de estado en la bicapa adoptando una estructura líquido-cristalina.

Utilizando medios a temperaturas por encima de los 20 °C se ha observado que la inactivación de los microorganismos es mayor, permitiendo realizar pasterizaciones de alimentos líquidos en tratamientos cortos y trabajando con campos eléctricos de intensidad moderada.

Resistencia de la cámara de tratamiento.

La resistencia de la cámara es importante tenerla en cuenta, ya que de ella dependerán otros parámetros tales como la forma del pulso, la intensidad de corriente que atraviesa el producto a tratar y el tiempo que experimente durante el tratamiento.

$$R = \frac{\rho d}{A}$$

La resistencia se expresa en ohmios (Ω), ρ es la resistividad ($\Omega \cdot m$), d la distancia entre los electrodos (m) y A el área del electrodo (m^2).

La resistividad es la inversa de la conductividad eléctrica y la conductividad mide la capacidad del medio para transmitir la corriente eléctrica. Este parámetro depende de la temperatura del medio, provocando que los aumentos de temperatura induzcan a cambios en la conductividad durante el tratamiento. Se denomina σ y se mide en siemens/m.

5.4. EQUIPOS.

En los equipos diseñados para la aplicación de tratamientos mediante PEF hay dos componentes que son los más importantes: el generador de campos eléctricos y la cámara de tratamiento.

Generador de alto voltaje.

En general se compone de tres elementos: un sistema de carga, un sistema de almacenamiento de energía (condensador) y de un interruptor. El generador de alto voltaje transforma la corriente alterna en corriente continua y carga los condensadores (donde se produce el almacenamiento de la energía). La descarga de la energía hacia la cámara de tratamiento se controla mediante un interruptor.

Los interruptores tipo "spark-gap" o similares, que presentan solo capacidad de abrir el circuito, producen una rápida descarga de la energía almacenada y el tratamiento finaliza cuando se agota la energía almacenada en el condensador, y son los utilizados en la formación de pulsos de caída exponencial. En la actualidad, los interruptores que generan pulsos de caída exponencial han sido sustituidos por interruptores que permiten una descarga controlada del condensador al tener la capacidad de abrir y cerrar el circuito, dando lugar a pulsos de forma cuadrada.

Para la aplicación de los procesos PEF en la industria alimentaria, son necesarios equipos con capacidad de trabajar con flujos de producto del orden de toneladas por hora. Para ello se requiere equipos de PEF capaces de generar pulsos a frecuencias, en el orden de kHz, con elevados niveles de corriente (> 100 A) y altos voltajes (40 – 100 kV).

Cámara de tratamiento.

La cámara de tratamiento es el lugar en el que se disponen aquellos productos que van a ser sometidos a los campos eléctricos.

Hay diferentes tipos de cámaras, pero todas ellas deben cumplir con unas características comunes, tales como asegurar la uniformidad del campo eléctrico y que las labores de limpieza y de esterilización, en los casos que sea necesario, se pueda realizar con facilidad.

El diseño básico de las cámaras de tratamiento se compone por dos electrodos, uno conectado al generador de alto voltaje, y otro conectado a tierra. Entre ambos electrodos separados por materiales aislantes se produce una diferencia de potencial, dando lugar a la formación del campo eléctrico. Ya que los electrodos y el material aislante estarán en contacto con los alimentos, deberán estar constituidos por materiales que no interaccionen con los productos, normalmente los electrodos son de acero inoxidable y los materiales aislantes cerámica o polímeros plásticos.

Existen tres tipos de cámaras de flujo continuo según el lugar que ocupen los electrodos en la cámara y de la estructura de está.

Electrodos paralelos: los electrodos se encuentran paralelos entre sí, uno se encuentra conectado con el generador y el otro a tierra, separados por material aislante. Son cámaras rectangulares a través de las cuales circula el alimento. La diferencia de potencial en esta configuración se genera perpendicularmente al flujo que llevan los alimentos. La principal ventaja de este tipo de cámaras es que el campo eléctrico formado es bastante uniforme, pudiendo calcular los parámetros y la intensidad del tratamiento con bastante precisión. Pero por contra, la superficie de los electrodos es demasiado amplia, haciendo que el gasto energético necesario para producir los campos eléctricos sea elevado.

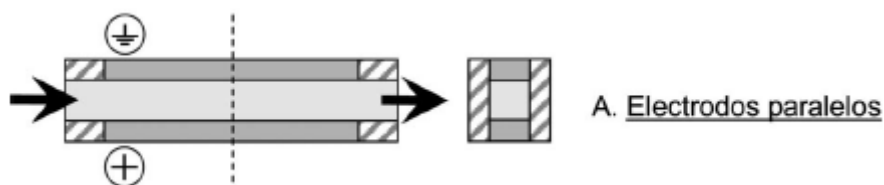


Figura 3: Cámara de tratamiento con una configuración electrodos paralelos (Puertolas et al. 2012)

Configuración coaxial: Cuenta con dos electrodos, uno interior, en forma de cilindro, normalmente conectado al generador, y otro electrodo exterior concéntrico, que suele estar conectado a tierra. Para modificar la distancia entre los electrodos, se aumenta o disminuye el diámetro del electrodo interior. Con esta configuración, la diferencia de potencial también se produce perpendicular al flujo de los alimentos. En este tipo de cámaras, la presentación del

campo eléctrico no es uniforme, y la intensidad será distinta en una zona de la cámara que en otra. Como ocurre con las cámaras con electrodos paralelos, la desventaja principal de esta cámara es la gran superficie de los electrodos, requiriendo gran cantidad de energía. Para conseguir la gran cantidad de energía requerida se necesitan generadores muy potentes, lo que limita el flujo de trabajo.

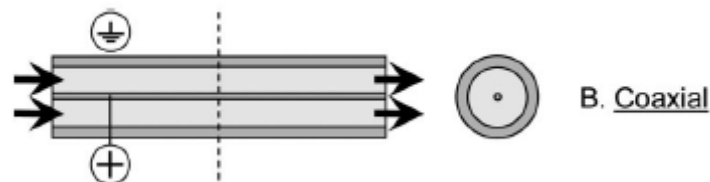


Figura 4: Cámara de tratamiento con una configuración de electrodos coaxial (Puertolas et al. 2012)

Configuración colineal: los electrodos son discos de acero, que se separan mediante piezas aislantes cilíndricas. Se trata de cámaras cilíndricas que permiten una fácil aplicación a líneas de producción ya existentes. A diferencia de las cámaras coaxiales y las de electrodos paralelos, en las cámaras colineales, la diferencia de potencial se genera siguiendo el flujo que siguen los alimentos. Al ser los electrodos discos de acero, se reduce notablemente la

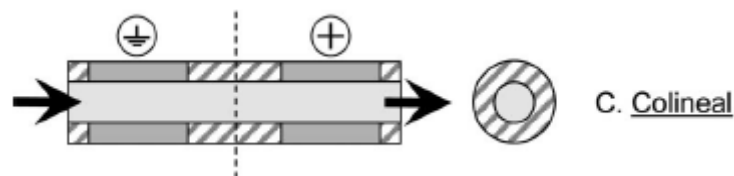


Figura 5: Cámara de tratamiento con una configuración de los electrodos colineal (Puertolas et al. 2012)

superficie de estos, por tanto, las necesidades energéticas necesarias para generar los campos eléctricos son menores. La desventaja de este tipo de configuración reside en que la distribución del campo eléctrico no es uniforme, esto supone un problema cuando se utilizan los PEF para la inactivación microbiana, porque hay que garantizar que se está produciendo la inactivación de los microorganismos mínimamente en todo el alimento.

Estimar con exactitud la intensidad del tratamiento aplicado y el volumen del producto tratado no es tarea sencilla, pero es necesario definir de manera correcta la distribución del campo eléctrico y la zona de tratamiento en las cámaras de flujo continuo para su aplicación industrial. Para ello, se requiere el uso de programas informáticos potentes con gran capacidad de cálculo para poder predecir de la manera más exacta posible estos factores del proceso. Una de las aplicaciones especialmente diseñada con este objetivo es Comsol Multiphysics®, que permite realizar la estimación de la intensidad del campo eléctrico, la temperatura del

proceso y hasta el flujo de los productos en el interior de las cámaras, logrando con su uso una mayor optimización del proceso.

Sistema de control y toma de datos.

Es necesario tener bajo control todo el proceso y realizar un registro de los principales parámetros (forma del pulso, número de pulsos, intensidad de la corriente, temperatura...). El registro de los parámetros eléctricos se realizará mediante sondas especiales, debido a que se trabaja con unos voltajes e intensidades de corriente muy elevados. Estas sondas están conectadas a un osciloscopio, y este suele estar conectado con un ordenador para el almacenamiento de los datos obtenidos. También es necesario el control de la temperatura, porque tiene una importante influencia sobre factores como la conductividad eléctrica de la cámara o la intensidad de campo eléctrico, entre otros. Para realizar la medida de la temperatura se suelen usar sondas termopares o sondas de temperatura de fibra óptica.

5.5. APLICACIONES.

5.5.1. Pasteurización:

La utilización de los PEF para la pasterización de alimentos líquidos (como los zumos) permite la obtención de productos con mejores características organolépticas y mejor valor nutritivo que los que se obtienen con una pasteurización térmica. Supone un ahorro energético con respecto a los tratamientos térmicos comunes, y es un proceso más respetuoso con el medio ambiente, ya que no se generan residuos derivados de este tratamiento. Actualmente, la pasteurización por PEF solo se lleva a cabo en alimentos líquidos, porque para conseguir una inactivación efectiva de los microorganismos en los alimentos sólidos se requiere el uso de una elevada intensidad de voltaje, por lo que su aplicación a nivel industrial supone un importante reto tecnológico.

Los PEF se utilizan únicamente para la pasterización, ya que las formas esporuladas y los mohos son resistentes. Al aplicar campos eléctricos de alta intensidad sobre los alimentos líquidos conseguimos eliminar la flora patógena y la mayor parte de las formas vegetativas alterantes. La causa de la inactivación microbiana por PEF es la formación de poros en las membranas celulares (electroporación) que alteran la permeabilidad de la membrana, aumentando el intercambio de sustancias del medio intracelular al extracelular y viceversa. La membrana tiene una función de protección y de regulación del intercambio de sustancias. Cuando se forman poros de manera irreversible, la viabilidad de la célula se ve afectada, causando la muerte de esta. Por lo tanto, en los tratamientos PEF para la pasterización el objetivo es conseguir la electroporación irreversible de las membranas citoplasmática.

Para conseguir una pasteurización eficaz en un medio líquido es necesario el uso de una intensidad de campo eléctrico entre 20-40 kV/cm y una energía específica de 100 a 1000 kJ/kg. Pero debido a la complejidad y la variación entre los diferentes alimentos a tratar, es necesario que cada industria verifique que parámetros son los más adecuados para su proceso.

Se ha observado que cuando se aplican PEF sobre células sometidas algún tipo de estrés (estrés térmico, por ejemplo), la inactivación es mayor, por esto, se combina la aplicación de PEF con el uso de temperaturas moderadas (por debajo de las utilizadas en los tratamientos térmicos convencionales).

El efecto bactericida de los PEF depende de los parámetros propios del proceso, de factores dependientes de los microorganismos a inactivar y de factores intrínsecos del alimento tratado. La intensidad del campo eléctrico tiene que ser superior al campo eléctrico crítico (E_c) necesario para electroporar aquellas células que deben ser eliminadas, si la intensidad del campo eléctrico no supera la E_c , el tratamiento no será eficaz. El tiempo de tratamiento también es importante. Es necesario también que se supere un tiempo de tratamiento crítico para provocar la inactivación. Una vez aplicados tratamientos con intensidades superiores a los valores críticos tiene mayor repercusión sobre el efecto bactericida un aumento de la intensidad del campo eléctrico que un aumento del tiempo de tratamiento. La forma del pulso y la temperatura son otros dos parámetros del proceso, los pulsos de onda cuadrada y los pulsos bipolares son más efectivos que los pulsos de caída exponencial y que los pulsos monopoles respectivamente. Con objeto de conseguir los niveles de inactivación requeridos para la pasteurización se suele elevar la temperatura de entrada entre 30 y 35 °C de modo que como consecuencia del tratamiento PEF a la salida de la cámara de tratamiento la temperatura oscila entre los 60 y 65°C. . A pesar de que estas temperaturas están próximas a las utilizadas en la pasteurización térmica, el corto tiempo de residencia del producto en la cámara de tratamiento (< 1 segundo) evita los efectos negativos del calor sobre las propiedades de los alimentos.

El efecto bactericida dependerá del tipo de microorganismos a los que vaya dirigidos, de la fase de crecimiento en la que se encuentren, siendo mayor el efecto de PEF cuando se encuentran en la fase de crecimiento exponencial.

Las características del alimento en el que se encuentran los microorganismos juegan también un papel importante (de la conductividad y la fuerza iónica, composición, pH). En cuanto a los parámetros propios del alimento a tratar, se ha observado que, en aquellos medios con pH

bajo, el efecto bactericida de PEF es mayor que en medios con pH neutro. La composición iónica del alimento también es determinante, se ha observado en diversos estudios que, la pasteurización mediante PEF es más letal en aquellos alimentos que presentan una menor fuerza iónica y menor conductividad.

Para prolongar la vida útil de los alimentos en ocasiones también es necesario la inactivación de enzimas endógenos que catalizan reacciones que afectan a las propiedades sensoriales de los alimentos. Debido al peculiar mecanismo de acción de los PEF sobre las membranas celulares su eficacia sobre la inactivación enzimática es escasa. Por ello, con objeto de evitar la multiplicación de los microorganismos alterantes y la acción enzimática, al igual que los alimentos pasteurizados por el calor, los alimentos pasteurizados por PEF deben almacenarse en refrigeración.

Leche pasteurizada por PEF:

La aplicación de PEF con un campo eléctrico de 55 kV/cm con pulsos de 0.8 s permite una eliminación total de las cepas de *Enterobacter*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus* inicialmente presentes en la leche y la inactivación de la fosfatasa alcalina (Al-Hilphy, 2012) En lo que respecta a la influencia del contenido graso de la leche en la eficacia del proceso, Reina et al. (1998) observaron que no había grandes diferencias en la inactivación de *Listeria monocytogenes* en leche entera, leche semidesnatada y leche desnatada.

Se han observado cambios de tamaño en las micelas de caseína por lo que cuando la leche tratada mediante PEF se destina a la elaboración de quesos, el tiempo de coagulación enzimática es menor y la cuajada presenta una mayor firmeza (Gomes da Cruz et al. 2014).

Al no utilizar temperaturas tan elevadas como en la pasteurización térmica (72°C/15 segundos), el color y los compuestos volátiles presentes en la leche no se verán afectados por los tratamientos PEF consiguiéndose un producto con mejores propiedades sensoriales.

Zumos pasteurizados por PEF:

La pasteurización de los zumos al igual que la pasteurización de la leche tiene como objetivo la inactivación de los microorganismos patógenos y la reducción de número de microorganismos alterantes con objeto de garantizar su seguridad microbiológica y alargar su vida útil. Al igual que en el caso de la leche la pasteurización no es eficaz sobre las formas esporuladas y la mayoría de los enzimas, por tanto, tras



Figura 6: Ejemplo de zumos de frutas comerciales tratados por PEF (fruity king)

el tratamiento PEF es necesario mantener los zumos en refrigeración.

El método de conservación de los zumos utilizado habitualmente consiste en un tratamiento térmico, pero su elevada termosensibilidad provoca que el tratamiento afecte a sus características sensoriales. Por ello, las diferencias en sabor, color e incluso textura entre los zumos frescos y los zumos tratados térmicamente son manifiestas. Además, se produce una pérdida del valor nutritivo de los zumos, produciéndose una importante pérdida tanto de vitamina C como de otras vitaminas y componentes.

Los PEF son interesantes como método alternativo a la pasterización térmica, ya que permiten la inactivación de los microorganismos patógenos y alterantes, sin los inconvenientes propios de los tratamientos por calor. El pH bajo de los zumos de frutas permite que el efecto bactericida sea más eficaz.

La sinergia entre la aplicación PEF y un tratamiento térmico suave (< 50°C) permite obtener productos de mayor calidad, más parecidos al producto fresco, con una menor pérdida del valor nutritivo y seguros. Se ha demostrado que la combinación de PEF (80 kV/cm) con un tratamiento térmico de 50°C reduce muy poco o nada el contenido de vitamina C en el zumo de naranja (Torregrosa et al. 2006; Wu et al. 2005).

Como se puede observar en la figura 6, la degradación de la vitamina C en los zumos PEF a lo largo del tiempo de almacenamiento es menor que en los zumos pasterizados térmicamente, por lo que la vida útil de los zumos PEF es mayor que los pasterizados (Torregrosa, 2006).

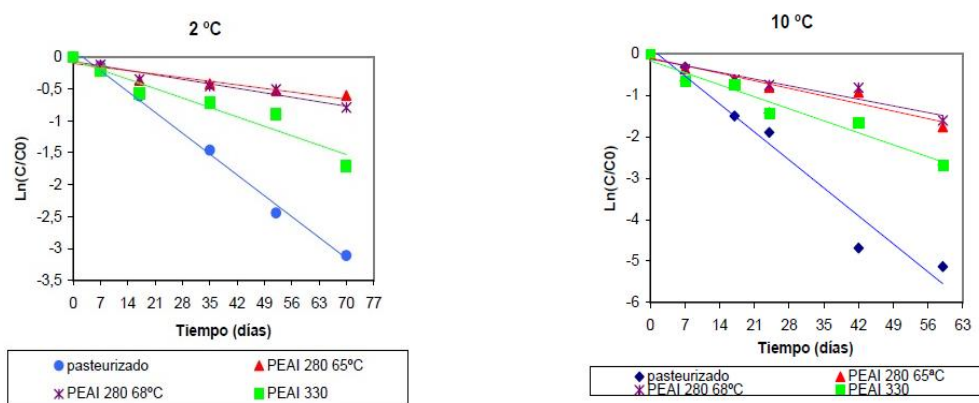


Figura 7: Cinética de degradación de la vitamina C en un zumo de naranja-zanahoria tratado por PEF (25 kV/cm) y pasterizado, durante el almacenamiento a 2°C y a 10°C (Torregrosa, 2006).

Para que los zumos resulten más atractivos a los consumidores, se busca que se produzca el efecto “nube”, esto significa que, en la composición final del zumo, las partículas de pectina, hemicelulosa, celulosa, lípidos y proteínas se encuentran divididas. Este efecto influye de manera positiva en la turbidez, sabor y especialmente en el color de los zumos de naranja. La

enzima pectinmetilesterasa (PME) va a impedir la formación del efecto nube en los zumos, por tanto, los tratamientos de conservación de los zumos deben perseguir la inactivación de la PME, aparte de otras enzimas. La combinación de PEF con un calentamiento moderado (<50°C) consigue una reducción de un 90-92.7 % de la actividad de la PME en el zumo de naranja, suficiente para evitar que aparezca el efecto “nube” (Hodgins et al. 2002; Yeom et al. 2002). Como se muestra en la figura 5 actualmente ya se pueden encontrar en el mercado zumos conservados mediante PEF.

5.5.2. Mejorar los fenómenos de transferencia de masa.

Los procesos extractivos son de interés para la industria alimentaria, ya que permite obtener componentes de gran valor del interior de las células (pigmentos, por ejemplo), aceites vegetales y zumos o eliminar el agua de los alimentos para favorecer así su conservación (deshidratación)

Los zumos a partir de vegetales o frutas, así como los aceites vegetales se obtienen mediante la aplicación de fuerzas mecánicas (prensas, centrifugas), que permiten separar la fracción líquida de los frutos o las semillas.

En otras ocasiones, para poder obtener determinados compuestos de interés intracelulares, es necesario la inmersión de la matriz sólida en solventes líquidos (acuosos u orgánicos) que se van a enriquecer en el componente de interés. Una vez extraído el componente de la matriz hay que proceder a su recuperación, este proceso se conoce con el nombre de extracción solido-líquido. Este tipo de proceso se usa por ejemplo para obtener azúcar de la remolacha azucarera o de la caña de azúcar, en el proceso de obtención de aceites de semillas (girasol) o para extraer otros compuestos como pigmentos o proteínas procedentes de vegetales o microorganismos.

Extracción de compuestos de valor a partir de microorganismos asistida por PEF:

Los microorganismos como las levaduras, las bacterias o las microalgas son una importante fuente de compuestos de alto valor, como proteínas o ácidos grasos. La obtención de estos compuestos a partir de ellos en lugar de los vegetales presenta una serie de ventajas, tales como la mayor biodisponibilidad de los compuestos, el rápido crecimiento, la facilidad de ser modificados genéticamente, y que no necesitan grandes tierras de cultivo para obtenerse. La forma clásica de obtener estos compuestos de los microorganismos es mediante su extracción a partir de la biomasa previamente deshidratada. Este proceso necesita de gran cantidad de energía para conseguir el secado de la biomasa y puede perjudicar la calidad de los compuestos por un proceso de oxidación.

Si la extracción se complementa con un pretratamiento mediante PEF se consigue reducir la energía necesaria para el secado de la biomasa, se reduce la liberación de sustancias no deseables, permitiéndose una extracción más selectiva de los compuestos.

Un ejemplo de la obtención de componentes de alto valor a partir de microorganismos es el uso de bacterias para conseguir la producción de determinadas proteínas. Para su extracción es necesario recurrir a procesos que faciliten la lisis de las bacterias, ya que las componentes se encuentran en el citoplasma. Estos procesos pueden ser procesos químicos (uso de disolventes) que requerirán aplicar procesos posteriores para eliminarlos o procesos físicos. Estos procesos requieren un gasto energético y económico importante. La tecnología PEF puede aplicarse en este proceso de obtención de compuestos a partir de bacterias. Permite realizar una extracción selectiva de las proteínas, según el tamaño de los poros que se formen en la membrana. La mayoría de las proteínas se pueden extraer con éxito cuando se usa campos eléctricos de alta intensidad y/o cuanto más largos sea la duración de los pulsos aplicados (Meglic et al., 2015).

La extracción de componentes intracelulares procedentes de levaduras con la ayuda de PEF se ha demostrado que permite realizar una extracción selectiva y eficaz de aquellos componentes requeridos (Liu et al., 2013). Además, se ha demostrado también que el tratamiento PEF desencadena los procesos de autólisis los cuales se producen como consecuencia de la propia degradación de las células tras su muerte (Martinez et al., 2016). Estos procesos de autólisis producido por PEF facilita la liberación de compuestos que forman parte de la pared celular, como en el caso de la *S.cerevisiae* liberando sustancias como manoproteínas, que son de importancia en la industria vinícola. Además, permite mejorar la extracción de componentes intracelulares como los carotenoides después de la incubación de levaduras *Rhodotourla glutinis* después del tratamiento con PEF (Martinez et al., 2018).

Extracción de compuestos de valor a partir de matrices vegetales:

Extracción de pigmentos vegetales.

La demanda por parte del consumidor de productos más naturales lleva a la industria a la creciente utilización de componentes naturales en lugar de compuestos sintéticos, como en el caso de los colorantes. Algunos de los colorantes naturales, como la clorofila y los carotenoides, se encuentran en el interior de las células, y requieren procesos de extracción basados en el empleo de elevadas temperaturas, provocando la degradación de aquellos componentes más termolábiles, o mediante el uso de solventes, que contaminan el extracto,

siendo necesario un tratamiento posterior de purificación, incrementando los costes de producción.

La utilización de PEF antes del proceso de extracción, mejora la difusión de compuestos, evitando el uso de temperaturas altas y permitiendo el uso de disolventes menos agresivos. Se ha estudiado el efecto de PEF en la extracción de pigmentos, como las antocianinas o carotenoides, después de haber tratado con PEF tomates, uvas, zanahorias o pimientos (Brianceau et al., 2015; Luengo et al., 2016).

Como el tamaño de las células vegetales es mayor que el de los microorganismos, la intensidad del campo eléctrico necesaria para electroporarlas es menor. La intensidad de campo eléctrica necesaria se encuentra entre 0.5 – 5 kV/cm. Además de la intensidad del campo eléctrico, para conseguir que el proceso extractivo sea efectivo es importante tener en cuenta el pH y la temperatura del medio en el que se realiza la extracción.

Mejorar expresión de zumos.

Para llevar a cabo la extracción de zumos a partir de vegetales o frutas, se someten a un tratamiento previo con el objetivo de aumentar la permeabilidad de las células y mejorar así los rendimientos del proceso extractivo. Convencionalmente estos tratamientos previos se realizan mediante tratamientos mecánicos, tratamientos químicos o tratamientos enzimáticos. Con estos pretratamientos se mejora el proceso extractivo y se aumenta la extracción, pero, provocan una reducción de la calidad del producto final y pueden suponer una contaminación del producto (adición de sustancias en los tratamientos químicos o enzimáticos), requiriendo procesos posteriores para la eliminación o reducción de las sustancias añadidas.

Con un pretratamiento PEF se consigue un aumento de la permeabilidad, pero sin los aspectos negativos de los procesos mencionados anteriormente. Además, su utilización, no solo consigue mejorar el proceso extractivo, sino que reduce el tiempo de procesado, requiere un menor coste energético en comparación con otros tratamientos y reduce la intensidad necesaria en los siguientes pasos de la cadena de producción. Se han podido observar las ventajas de la utilización de PEF previamente o durante la extracción (1 – 5 kV/cm) en la obtención de zumos de zanahoria o manzana (Vorobiev and Lebovka, 2008).

Extracción de aceites.

Los mecanismos por los cuales se extraen aceites son diferentes dependiendo del origen de esto, por ejemplo, en el caso del aceite de oliva virgen extra se extrae de las aceitunas mediante procesos mecánicos, mientras que los aceites obtenidos a partir de semillas requieren de procesos de extracción más complejos.

En el caso de los aceites de semillas se mezcla las semillas con sustancias solventes, después se procede a la separación de la mezcla de solvente-aceite del resto de componentes no deseados y más tarde, a través de un proceso de destilación, se eliminar el solvente del aceite. Aplicar un tratamiento previo PEF mejorar los rendimientos de la extracción y la calidad final del aceite, estas mejoras se han podido observar en los procesos extractivos del aceite de soja, de maíz, colza y sésamo (Vorobiev and Lebovka, 2016).

El aceite de oliva que se obtiene mediante procesos mecánicos (trititación, centrifugación) los cuales afectan a la calidad final del producto. La utilización de los PEF en este proceso facilita la extracción posterior, reduciendo la energía necesaria a aplicar durante esta, y aumenta la concentración final de componentes como los polifenoles o fitoesteroles, los cuales son de gran interés y dotan al aceite de mayor calidad. El aceite de oliva obtenido a partir de una pasta de aceitunas pretratada con PEF (2 kV/cm; 11.25 kJ/kg) presenta mayor concentración total de polifenoles, fitosteroles y tocoferoles (11.5, 9.9 y 15 % respectivamente) que los aceites de oliva obtenidos de aceitunas sin tratar (Puertolas *et al.* 2006).

Aplicación en la elaboración de vinos.

El primer paso en el proceso de elaboración del vino tinto consiste en la fermentación del mosto obtenido a partir del estrujado de las uvas junto con los hollejos. Esta etapa se denomina maceración-fermentación. El objetivo principal por el cual la fermentación se realiza en presencia de los hollejos es para que además de transformarse el azúcar en etanol el mosto se enriquece en polifenoles que se encuentran en la piel de las uvas. Los polifenoles son los responsables del color del vino tinto, pero también contribuyen a su sabor a su conservación y a los efectos beneficiosos que se atribuyen al consumo moderado de este tipo de vino.

Como los polifenoles se encuentran en la piel de la uva, no son fácilmente accesibles, por ello se recurre a procesos previos para mejorar la liberación de los polifenoles. Tradicionalmente para aumentar la concentración de polifenoles se aumentan los tiempos de maceración, lo cual provoca un descenso de la capacidad de producción.

La utilización de PEF aumenta la permeabilidad de las células presentes en la piel de la uva, facilitando así la incorporación de los polifenoles, aumentando su concentración final y reduciendo el tiempo de maceración (Saldaña *et al.*, 2016). Además, se ha podido observar que el uso de PEF aumenta mejora también la extracción de compuestos aromáticos.

Los PEF son una tecnología de interés para las empresas vinícolas debido al escaso gasto energético (< 10 kV/kg) de los generadores, los cuales tienen gran capacidad de procesado,

ajustándose a la producción de vino, y su facilidad para introducirlo en una línea de procesado ya existente gracias a que permiten flujos de trabajo continuos.

Producción de azúcar.

Otro compuesto de gran interés en la industria alimentaria es la sacarosa, ya que es el edulcorante más utilizado en el mundo. Su extracción se realiza a partir de la remolacha azucarera, la caña de azúcar o del maíz.

Su obtención industrial a partir de la remolacha azucarera se realiza en un difusor con agua a 70-74 °C, estas temperaturas elevadas provocan la rotura de las membranas celulares de la remolacha, y así se produce la salida de la sacarosa del interior celular. Pero al provocar la rotura de las membranas celulares, en el agua de recogida se contamina con las proteínas y pectinas que forman parte de las mismas. Para poder obtener sacarosa, necesitaremos de un proceso previo para eliminar estos componentes.

Cuando se utilizan los PEF en lugar del procesado térmico para incrementar la permeabilidad de las membranas de las células de remolacha se observa que los extractos obtenidos mediante difusión fría de remolacha azucarera tratada con PEF es más puro que el extracto que se obtiene mediante difusión térmica (70°C). Si se combina un calentamiento moderado (50°C) y el tratamiento PEF se ha observado que el tiempo de difusión se acorta.

Si se incorporase la tecnología PEF a la industria azucarera, podrían obtener un ahorro energético y disminución de los costes, pero evitando los problemas derivados de las técnicas tradicionales de obtención de azúcar.

Revalorización de subproductos.

Con el fin de reducir el impacto ambiental y revalorizar la gran cantidad de subproductos que se producen en la industria alimentaria, se plantea la opción de extraer compuesto de estos subproductos con el fin de utilizarlos en la industria alimentaria o cosmética. El principal problema de esta idea es que los métodos de extracción convencionales suponen un coste adicional demasiado grande ya que se trata de subproductos.

Para que este proceso sea menos costoso y se tenga en cuenta como una alternativa real, se ha investigado la extracción de componentes de interés provenientes de los subproductos de la industria alimentaria mediante la asistencia de PEF (Poojary et al., 2016). El proceso de extracción mediante la utilización de PEF tiene un menor coste, siendo entonces un método de revalorización interesante para las industrias.

Los restos de semillas son una fuente de polifenoles, proteínas e isocianinas. La utilización del tratamiento PEF mejora la extracción de estos componentes procedentes de semillas de sésamo, semillas de papaya o semillas de aceituna.

También en la industria del vino tienen cabida, para revalorizar los subproductos y desecho se ha valorado la extracción de compuestos antioxidantes a partir de estos.

Deshidratación:

La deshidratación es una forma de conservar los alimentos que consiste en eliminar el máximo posible de agua del alimento, reduciendo así la actividad de agua e impidiendo el crecimiento de gran parte de organismos patógenos y reduciendo la actividad enzimática. Normalmente, la para la eliminación del agua que se encuentra en la matriz de los alimentos se realiza un calentamiento que facilita la transferencia de agua al ambiente. Existen variedad de técnicas usadas para conseguir eliminar el agua de los alimentos, como la utilización de calor directo (aire caliente) o indirecto (infrarrojos, microondas), congelación-secado, liofilización... Dependiendo del alimento a procesar, las técnicas utilizadas serán unas u otras. La técnica que se usa con más asiduidad es el secado mediante aire caliente.

La aplicación de un tratamiento previo con PEF mejorar el posterior proceso de secado de los alimentos, gracias al aumento de permeabilización que se produce sobre las membranas celulares, facilitando la eliminación de agua. Se ha observado que no solo aumentan la permeabilidad, si no que aumenta la transferencia de calor entre el medio las células, lo cual acelera el proceso de secado (Donsi et al., 2010). Los valores del tratamiento previo de PEF se encuentran entre 0.1 – 5 kV/cm, aunque el valor optimo depende del alimento que va a ser tratado, se han estimado valore de 0.2 a 0.4 kV/cm en el caso de manzanas, patatas o zanahorias y valores de 0.5 – 1kV/cm para los plátanos o las peras (Bazhal et al., 2003).

En conclusión, incluir un PEF en el proceso de secado permite reducir el tiempo total de tratamiento, reducir la temperatura necesaria a aplicar durante el proceso de secado mediante aire caliente y reducir el gasto energético total del proceso.

Cuando el alimento a tratar es especialmente sensible a el calor (frutas o vegetales), en lugar de usar el aire caliente para conseguir reducir la actividad de agua del alimento, se recurre a un proceso de deshidratación osmótica, la cal consiste en introducción del alimento en un medio hipertónico. La temperatura utilizada en este proceso se encuentra por debajo de los 50°C y la energía necesaria para llevarlo a cabo es menor de la necesaria en el proceso que emplea aire caliente. La utilización de PEF como técnica de ayuda en el proceso de

deshidratación osmótica permite reducir los largos periodos de tratamiento que está requiere. Se han demostrado efectos positivos de la utilización de PEF para realizar el proceso de deshidratación osmótica en manzanas (Amami et al., 2006), zanahorias y mangos (Donsi et al., 2010; Vorobiev and Lebovska, 2008)

5.5.3. Facilitar los procesos de pelado y cortado de los vegetales.

En aquellos procesos en los que se requiere cortar o pelar frutas y vegetales, hay que tener en cuenta su firmeza. El principal componente de la firmeza en vegetales y frutas es la turgencia. Cuando se disminuye la presión de la turgencia, el proceso de cortado o pelado requiere menor gasto energético. La forma tradicional de reducir esa turgencia, para facilitar las labores de pelado/cortado y ablandar los alimentos, consiste en la aplicación de tratamientos térmicos previos o la utilización de enzimas que ayuden a romper las estructuras celulares. Estos métodos conllevan un elevado gasto energético (en el caso del tratamiento térmico previo) y son procesos que requieren largos periodos de tiempo (para que las enzimas actúen).

Cuando se aplica PEF sobre una fruta, por ejemplo, se consigue disminuir la turgencia debido a la alteración de las membranas celulares, aumentado su permeabilidad y provocando la salida del material intracelular al medio exterior, disminuyendo la presión osmótica entre el medio intracelular y el extracelular. Gracias a que se modifica la estructura física del alimento tratado, este adquiere una mayor flexibilidad y de esta forma una mayor versatilidad en la presentación del producto final, como en la elaboración de patatas fritas con diferentes formas (Figuras).



Figura 8: Imagen mostrando la flexibilidad de un bastoncito de patata tras un tratamiento PEF (Elea-technology.de)



Figura 9: Patatas tratadas por PEF tras la fritura (Elea-technology.de)

La aplicación de esta tecnología en la elaboración de patatas fritas o snacks de patata reduce su resistencia al corte consiguiéndose un corte mucho más limpio (figura 7) y prolongándose considerablemente la vida útil de las cuchillas. Además, las piezas de patata tras el corte se vuelven más flexibles los que provoca menos mermas por rotura durante su manipulación

antes de la fritura (figura 8). Además, se ha observado que durante el proceso de prefritura que sufren las patatas antes de su congelado el gasto energético es menor ya que esta etapa

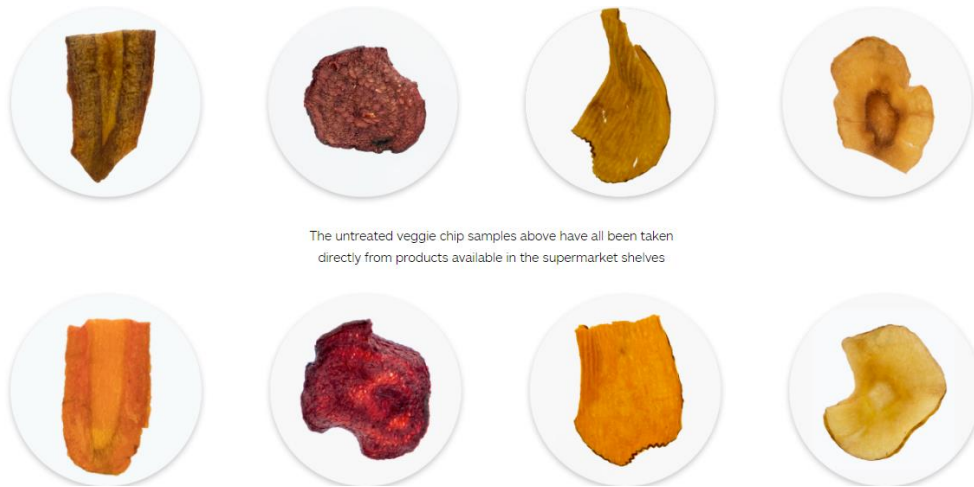


Figura 10: Chips obtenidos a partir de vegetales tratados por PEF (Elea-technology.de)

es más rápida, se produce una menor absorción de aceite en el producto y el aspecto de las patatas tras la fritura sea más brillante y con un color más vivo que en aquellas patatas en las que no se aplica PEF (Figura).

Actualmente, el tratamiento de patatas para la elaboración de patatas fritas congeladas es la principal aplicación de la tecnología PEF en la industria alimentaria.

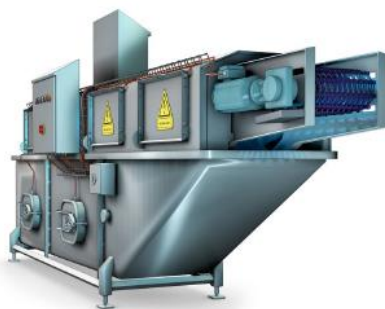


Figura 10: Equipo de procesamiento de patatas por PEF (elea-technologies.de)

Los equipos PEF disponibles para esta aplicación se pueden incorporar fácilmente a las cadenas de producción ya existentes, porque permiten trabajar con un flujo continuo y con elevados volúmenes de trabajo. La Figura 10 es una muestra de una de estas máquinas, de la empresa Elea technologie (Alemania), que tiene una capacidad de procesamiento de hasta 55 toneladas de patatas por hora. Se comercializan distintos modelos en función del volumen de producción requerido. Son máquinas con un bajo consumo energético y bajo consumo de recursos hídricos.

5.6. ASPECTOS LEGALES.

Los alimentos en cuya obtención o elaboración se incluya la tecnología PEF, como cualquier otro alimento destinado al consumo humano o animal tiene que cumplir la normativa vigente en la UE, recogida en el Reglamento (UE) 178/2002. Este Reglamento pretende garantizar un alto nivel de protección de la salud humana y de sus intereses en relación con los alimentos. Esta legislación debe de cumplirse y respetarse a lo largo de toda la cadena alimentaria, tanto en la producción y transformación como en la distribución.

Por otra parte, los alimentos procesados por nuevas tecnologías deben cumplir lo establecido en el Reglamento (UE) 2015/2283 para “nuevos alimentos”, que sustituye al anterior reglamento sobre nuevos alimentos, el Reglamento (UE) 258/97, y que entró en vigor el 1 de enero de 2018. En este Reglamento se define como nuevo alimento aquellos que no se han usado para el consumo humano de una manera significativa en la Unión Europea antes del 15 de mayo de 1997, y estará incluido en al menos una de las categorías en las que divide estos alimentos.

La categoría VII hace referencia a los nuevos sistemas de procesado de alimentos: *“alimento que resulte de un nuevo proceso de producción no utilizado para la producción alimentaria en la Unión antes del 15 de mayo de 1997, que dé lugar a cambios significativos en la composición o estructura del alimento que afectan a su valor nutritivo, a su metabolismo o al nivel de sustancias indeseables”*. En la actualidad, los alimentos sometidos a tratamientos PEF que se comercializan en la UE no se encontrarían dentro de esta categoría y por lo tanto no se consideran nuevos alimentos ya que se considera que el tratamiento no da lugar a cambios significativos ni en su composición ni estructura, ni afectara de manera notable su valor nutritivo, metabolismo o nivel de sustancias indeseables.

En cualquier caso, la responsabilidad final de asegurar que los alimentos se ajustan a la legislación vigente está a manos de los operadores de la industria alimentaria, que deberán asignar la categoría adecuada a sus productos y verificar que se ajusta todo el proceso y el producto final a la legislación nacional y europea referente a la seguridad alimentaria. Cuando existan dudas sobre la necesidad de que el alimento comercializado se incluya en dicho Reglamento, será la propia empresa la que deba seguir los cauces adecuados para consultar al correspondiente Estado Miembro, en el cual quiera vender su producto. Si fuese considerado como un “nuevo alimento” sería necesario solicitar dicho permiso siguiendo los pasos establecidos en el Reglamento (UE) 2015/2283.

Hay que tener en cuenta también, el Reglamento (CE) 1935/2004 del parlamento europeo y del consejo de 27 de octubre de 2004 sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con los alimentos. Los materiales con los que se envasen los alimentos sometidos PEF o cualquier material que entre en contacto con ellos, deben ser de materiales suficientemente inertes para evitar la transferencia de sustancias desde el envase/material a los alimentos en cantidades que puedan poner en peligro la salud humana o que ocasionen una modificación inaceptable en la composición del alimento o una alteración de sus características organolépticas.

Los responsables de las industrias deberán respetar las indicaciones referentes al etiquetado de los productos PEF expuestas en la Directiva 2000/13/CE del parlamento europeo y del consejo de 20 de marzo de 2000 relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en materia de etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios. *“Un etiquetado detallado relativo a la naturaleza exacta y las características del producto, que permite al consumidor realizar su elección con conocimiento de causa, es el más apropiado en la medida en que crea menos obstáculos a la libertad del intercambio”*. Los productos PEF deberían incluir en su etiquetado la información referente el tipo de tratamiento al que se han sometido, permitiendo al consumidor entender las diferencias entre estos alimentos y otros sometidos a otros procesos, pero actualmente no es obligatorio. La etiqueta correspondiente deberá incluir las condiciones específicas de almacenamiento y uso, si fuesen necesarias.

6. CONCLUSIONES.

La aplicación de un campo eléctrico de alta intensidad (PEF) provoca la formación de poros en la membrana citoplasmática de las células (electroporación).

La posibilidad de acceder al citoplasma de las células a través de los poros formados en la membrana citoplasmática hace que esta técnica tenga multitud de aplicaciones en distintos sectores como la biotecnología, la medicina o la industria alimentaria.

Mientras que las principales aplicaciones de la tecnología PEF en el campo de la biotecnología y la medicina están basadas en la electroporación reversible (los poros formados se cierran cuando cesa el campo eléctrico), en la industria alimentaria se basan en la electroporación irreversible (los poros formados no se vuelven a cerrar tras el tratamiento)

Los principales efectos de interés de los PEF en la industria alimentaria son la inactivación microbiana, el aumento de la permeabilidad de la membrana citoplasmática de las células para favorecer la extracción de componentes intracelulares de interés y la modificación de la textura de los alimentos.

La posibilidad que ofrecen los PEF para inactivar microorganismos a temperaturas más bajas que las utilizadas en los tratamientos térmicos de pasteurización resulta muy atractiva a la industria alimentaria que está interesada en reducir los efectos negativos del calor sobre las propiedades de los alimentos. En este sentido en la actualidad, existe en el mercado zumos de fruta pasteurizados por PEF.

El incremento de la permeabilidad de la membrana citoplasmática de las células mediante los tratamientos PEF facilita la extracción de componentes intracelulares de interés. Se ha demostrado que Estos tratamientos aumenta el rendimiento del proceso de extracción y/o reduce el tiempo de procesado de distintas operaciones de la industria alimentaria como son la extracción de azúcar de remolacha, la extracción de zumos de fruta, la extracción de pigmentos, la extracción de aceite de oliva o la extracción de polifenoles de la piel de la uva durante el proceso de elaboración de vino tinto.

La electroporación de frutas y hortalizas ablanda los tejidos lo que facilita su cortado y pelado reduciendo la energía necesaria y obteniéndose productos más flexibles y menos frágiles. Actualmente la principal aplicación actual en la industria alimentaria es en la elaboración de patatas fritas congeladas, permitiendo reducir la energía necesaria para realizar el corte de las

patatas y dotándolas de mayor flexibilidad, permitiendo la comercialización de patatas más atractivas al consumidor y con un menor porcentaje de rotura.

Para que la tecnología PEF se instaure de manera extendida en la industria es necesario tener en cuenta la viabilidad económica y energética que presenta, ya que la mayoría de los estudios y ensayos llevados a cabo se realizan en condiciones experimentales en laboratorios, y antes de implementar los PEF en una cadena de producción de un determinado producto, es necesario realizar un estudio individualizado del caso en cuestión, teniendo en cuenta cuáles serán los beneficios e inconvenientes de esta técnica frente a otras tecnologías.

CONCLUSIONS

The application of a high intensity electric field (PEF) causes the formation of pores in the cytoplasmic membrane of cells (electroporation).

The possibility of accessing to the cytoplasm of cells through the pores formed in the cytoplasmic membrane makes this technique applicable in so many different sectors such as biotechnology, medicine or the food industry.

While the main applications of PEF technology in the field of biotechnology and medicine are based on reversible electroporation (the pores formed close when the electric field ceases), in the food industry they rely on irreversible electroporation (the pores formed do not close again after treatment).

The main effects of interest of the PEF in the food industry are the microbial inactivation, the increase of the permeability of the cytoplasmic membrane of the cells to favor the extraction of intracellular components of interest and the modification of the texture of the food.

The possibility offered by the PEF to inactivate microorganisms at lower temperatures than those used in thermal pasteurization treatments is very attractive to the food industry that is interested in reducing the negative effects of heat on the properties of food. Currently, there are fruit juices pasteurized by PEF in the market.

The increase of the permeability of the cytoplasmic membrane of the cells through the PEF treatments facilitates the extraction of intracellular components of interest. It has been shown that these treatments increase the performance of the extraction process and / or reduce the processing time of different operations in the food industry such as beet sugar extraction, extraction of fruit juices, extraction of pigments, extraction of olive oil or extraction of polyphenols from the skin of the grapes during the process of red wine-making.

The electroporation of fruits and vegetables softens the tissues which facilitates cutting and peeling, reducing the necessary energy and obtaining more flexible and less fragile products. Currently the main application in the food industry is in the production of frozen chips, allowing to reduce the energy needed to cut of the potatoes and providing them with greater flexibility, allowing the commercialization of potatoes more attractive to the consumer and with a lower percentage of breakage.

In order for the PEF technology to be established in an extended way in the industry, it is necessary to take into account economic and energy viability., Since most of the studies and tests carried out are carried out under experimental conditions in laboratories, and before implementing PEF in a production chain of a specific product, it is necessary to carry out an individualized study of the case in question, taking into account what the benefits and disadvantages of this technique will be compared to other technologies.

7. VALORACIÓN PERSONAL.

La realización de este trabajo me ha servido para mejorar mi capacidad de recopilación y búsqueda de información en diferentes medios. También me ha ayudado a mejorar mi comprensión de textos de carácter científicos escritos en inglés y a familiarizarme con diferentes conceptos científicos que desconocía. El proceso de elaboración del trabajo me ha permitido también practicar y mejorar mi capacidad para la redacción.

8. BIBLIOGRAFÍA.

- Botero Uribe, M., Fitzgerald, M., Gilbert, R.G. y Midgley, J. (2017) "Effect of pulsed electrical fields on the structural properties that affect french fry texture during processing". *Trends in Food Science and Technology*, 67, pp 1-11. Doi: 10.1016/j.tifs.2017.05.016
- Cebrian, G., Mañas, P. y Condón, S. (2016) "Comparative Resistance of Bacterial Foodborne Pathogens to Non-thermal Technologies for Food Preservation". *Frontiers in Microbiology*, 7 (734), pp 1-17. Disponible en www.frontiersin.org
- Cerón-Carrillo, T.G., Palou, E. y López-Malo, A (2010) "Pulsos eléctricos: fundamentos y aplicaciones en alimentos". *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 4 (1), pp 9-26.
- Deeth, H.C., Datta, N., Ross, A.I.V. y Dam, X.T. (2007) "Pulsed Electric Fields Technology: Effect on Milk and Fruit Juice", en Tewari, G. y Juneja V. K. (Ed.) *Advances in Thermal and Non-thermal Food Preservation*. Iowa, Blackwell Publishing, pp. 241-271.
- Elea (2014) Chips vegetales [imagen] Recuperado de: <http://elea-technology.de/product/veggie-chips/>
- Elea (2014) Maquina [imagen] Recuperado de: http://elea-technology.de/wp-content/uploads/2016/12/Elea_System_screen.pdf
- Elea (2014) patata sin freír y patata frita [imagen] Recuperado de: <http://elea-technology.de/product/elea-pef-potato-chips/>
- Fauster, T., Schlossnikl, D., Rath, F., Ostermeier, R., Teufel, F., Toepfl, S. y Jeager, H. (2018) "Impact of pulsed electric field (PEF) pretreatment on process performance of industrial French fries production". *Journal of Food Engineering*, 235, pp 16-22. Doi: 10.1016/j.jfoodeng.2018.04.023
- Fruity King (s/f) Zumos de frutas tratados mediante PEF [imagen] Recuperado de: <https://www.wabel.com/c/fruitindustry>
- Kotnik, T., Kramar, P. Pucihar y Miklavcic, D. (2012) "Cell Membrane Electroporation – Part 1: The Phenomenon." *IEEE Electric Insulation Magazine*, 28 (5), pp 14-23.
- Luengo Marañillo, E. (2015) *Evaluación de la tecnología de pulsos eléctricos de alto voltaje para la mejora de distintos procesos de extracción*. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza.
- Mittal, G.S. y Griffiths, M.W. (2005) "Pulsed Electric Field of Liquid Foods and Beverages" en Sun, D. (Ed.) *Emerging Technologies for Food Processing*, London, Elsevier academic press, pp 99-131.
- Pan, Y., Sun, D. y Han, Z. (2017) "Applications of electromagnetic fields for nonthermal inactivation of microorganisms in food: An overview". *Trends in Food Science and Technology*, 64, pp 13-22. Doi: 10.1016/j.tifs.2017.02.014
- Puértolas, E. y Barba, F.J. (2016) "Electrotechnologies applied to valorization of by-products from foods industry: Main findings, energy and economic cost of their industrialization". *Food and Bioprocess Processing*, 100 (A), pp 172-184. Doi: 10.1016/j.fbp.2016.06.020

- Puértolas, E., Álvarez, I., Raso, J. y Martínez de Marañón, I. (2012) "Industrial application of pulsed electric field for food pasteurization: review of its technical and commercial viability". *CyTA – Journal Food*, 10. DOI: 10.1080/19476337.2012.693542
- Puértolas, E., Saldaña, G. y Raso, J (2017) "Pulsed Electric Field Treatment for Fruit and Vegetable Processing" en Miklavcic, D. (Ed.) *Handbook of Electroporation*, Slovenia, Springer International Publishing, pp 2-20.
- Raso, J. (2017) *Pulsos eléctricos de alto voltaje: fundamentos* [figura] [power point] Universidad de Zaragoza.
- Raso, J., Condón, S. y Álvarez, I. (2014) "Nonthermal Processing: Pulsed Electric Field". *Encyclopedia of Food Microbiology*. doi: 10.1016/B978-0-12-384730-0.00397-9
- Raso, J., Frey, W., Ferrari, G., Pataro, G., Knorr, D., Teissie, J. y Miklavcic, D. (2016) "Recommendations guidelines the key information to be reported in studies of application of PEF technology in food and biotechnological processes". *Innovative Food Science and Emerging Technology*, 37 (C), pp 312-321. Doi: 10.1016/j.ifset.2016.08.003
- Rivas Soler, A. (2012) *Aplicación de Pulsos Eléctricos de Alta Intensidad en una bebida mezcla de zumo de naranja y leche: Efectos sobre Escherichia coli, Saccharomyces cerevisiae, componentes nutricionales y calidad*. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Saldaña, G., Cebrián, G., Abendoza, M., Sánchez-Gimeno, C., Álvarez, I. y Raso, J. (2017) "Assessing the efficacy of PEF treatments for improving polyphenol extraction during red wine vinifications". *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 39, pp 179-187. Doi: 10.1016/j.ifset.2016.12.008.
- Saldaña, G., Puértolas, E., Monfort, S., Raso, J., Álvarez, I. (2011) "Defining treatment conditions for pulsed electric field pasteurization of apple juice". *International Journal of Food Microbiology*. 151(1), pp 29–35. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.033
- Toepfl, S., Heinz, V. y Knorr, D. (2005) "Overview of Pulsed Electric Field Processing for Food" en Sun, D. (Ed.) *Emerging Technologies for Food Processing*, London, Elsevier academic press, pp 69-91.
- Toepfl, S., Heinz, V. y Knorr, D. (2005) Pulsos de onda cuadrada y pulsos de caída exponencial [Figura] Recuperada de "Overview of Pulsed Electric Field Processing for Food" en Sun, D. (Ed.) *Emerging Technologies for Food Processing*, London, Elsevier academic press, pp 69-91.
- Torregrosa Verdú, F. (2006) *Determinación de vitamina C y carotenoides en zumos de frutas y hortalizas frescos, tratados por calor o por pulsos eléctricos de alta intensidad (PEAI)*. Tesis doctoral. Universidad de Valencia.
- Torregrosa Verdú, F. (2006): Cinética de degradación de la vitamina C en un zumo de naranja-zanahoria tratado por PEF (25 kV/cm) y pasteurizado, durante el almacenamiento a 2°C y a 10°C [Figura] Recuperado de *Determinación de vitamina C y carotenoides en zumos de frutas y hortalizas frescos, tratados por calor o por pulsos eléctricos de alta intensidad (PEAI)*. Tesis doctoral. Universidad de Valencia.