

NUEVAS PERSPECTIVAS PARA LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

NUEVAS PERSPECTIVAS PARA LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Manuel Vázquez Vázquez
(coordinador)

VERÁN  USC 2008
CURSOS E OUTRAS ACTIVIDADES DE EXTENSIÓN CULTURAL



Primera edición: 2008

© Manuel Vázquez Vázquez

Derechos exclusivos de edición reservados
para Manuel Vázquez Vázquez. Prohibida
la reproducción total o parcial por cualquier
medio sin autorización escrita de los editores.

Altaga
Facultad de Ciencias - Universidad de Santiago de Compostela
Avda Alfonso X el sabio
27002 Lugo
vazquezm@usc.es
www.altaga.org

ISBN: 978-84-612-4335-8

Deposito Legal: LU 149-2008

Impreso en España / Printed in Spain

Índice

Introducción	8
Halal: un concepto global	9
Escudero Uribe, H.	
Sacrificio halal y bienestar animal	27
Bouzraa, S.	
Reacciones adversas a los alimentos: Alergia vs. Intolerancia	39
Prats Bufo, F.	
Tecnología de altas presiones hidrostáticas y aplicaciones para la industria alimentaria	93
Vázquez, M.	
Altas presiones y congelación de alimentos	121
Sanz, P.D, Otero, L., Guignon, B. y Aparicio, C.	
Aplicación de pulsos eléctricos de alta intensidad de campo en zumos	139
Elez Martínez, P.; Soliva Fortuny, R.; Martín Belloso, O.	
Aplicaciones de los campos eléctricos pulsantes de alta intensidad (peai) en bebidas con leche y alimentos infantiles	169
Pina Pérez, M.C.	

Introducción

Nuevas perspectivas se están abriendo camino en torno a la industria alimentaria, tanto a nivel tecnológico como social.

La influencia de las religiones en la conducta alimentaria es un hecho de especial relevancia. Esta influencia lleva a la existencia de estrictas normas que afectan al tipo de alimentos aptos para ser consumidos, formas de obtención y elaboración de los alimentos y mezclas de los mismos.

Otro tema importante para la industria alimentaria es el aumento de las enfermedades relacionadas con las alergias e intolerancias alimentarias, esto hace que al aumentar la demanda, las empresas desarrollen en sus programas de I+D nuevos alimentos dirigidos a personas con necesidades alimentarias especiales como celíacos, intolerantes a la lactosa, etc.

Por último, otro nuevo campo en la industria alimentaria son las nuevas tecnologías como altas presiones y campos eléctricos pulsantes de alta intensidad aplicados en los alimentos para poder incrementar los períodos de conservación de los mismos, minimizando las modificaciones de las características organolépticas que se producen en los tratamientos de conservación y esterilización tradicionales.

Este libro recoge las aportaciones de los ponentes del curso de verano de la Universidad de Santiago de Compostela celebra del 7 al 11 de Julio de 2008 en Monforte de Lemos (Lugo).

HALAL: UN CONCEPTO GLOBAL

Escudero Uribe, H.

Director de desarrollo y certificación halal. Instituto Halal.

Correo electrónico: hanif.escudero@institutohalal.com /

hanifescudero@gmail.com

1. PRESENCIA DE MUSULMANES/AS EN ESPAÑA

La presencia de musulmanes/as en España viene marcada por un hecho diferencial que lo distingue del resto de Europa:

El fenómeno de la conversión y la existencia de las Ciudades Autónomas de Ceuta y Melilla con mayoría de población española de credo islámico.

El fenómeno de la inmigración con más de 15 años de tradición está significado por la presencia masiva de personas originarias del Maghreb y del África subsahariana, y más recientemente del África negra,

La presencia árabe en España no se debe tanto a una inmigración de subsistencia, sino al asentamiento de pequeños colectivos por diversas circunstancias, como negocios, presencia diplomática, etc.

Es el primer elemento el que marca la diferencia a nivel jurídico con respecto a los musulmanes/as asentados en otros países europeos.

2. LA FIRMA DE LOS ACUERDOS DE COOPERACIÓN (1.992)

En 1.989 se constituyen las primeras asociaciones religiosas islámicas, como requisito previo a la negociación y la firma posterior de Los Acuerdos de Cooperación entre el Estado y las religiones declaradas de Notorio Arraigo en nuestro país: Protestantes, Judíos y Musulmanes.

JUNTA ISLÁMICA y su presidente D. Francisco Escudero Bedate, juegan un papel muy importante en este proceso, consolidándose como la entidad que ha demostrado mayor capacidad de interlocución y negociación con el Estado, en el desarrollo de las libertades y derechos civiles de los/musulmanes/as en los últimos 20 años.

Coincidiendo con la celebración de 1.992, se firman los Acuerdos de Cooperación, que en el caso de los/as musulmanes/as, constan de 14 artículos que recogen y regulan la vida y práctica religiosa de esta confesión en nuestro país. Se aprueba con rango de Ley de Cortes el 10 de noviembre 1992/26, según lo dispuesto en la Ley de Libertad Religiosa, artículo 7.1 de la Ley Orgánica 7/1980.

Esta Ley se aprueba por unanimidad en Las Cortes y lo firman el Rey Don Juan Carlos, el Presidente del Gobierno D. Felipe González y los Secretarios Generales de la Comisión Islámica de España, órgano de máximo rango de representación del conjunto de las entidades y asociaciones islámicas en nuestro país.

La Comisión Islámica de España, equivalente de su rango a la Conferencia Episcopal, representa a un total de dos federaciones: Federación Española de Entidades Religiosas Islámicas (FEERI) y la Unión de Comunidades Islámicas Españolas (UCIDE), albergando entre ambas más de 200 asociaciones de carácter religioso.

LOS/AS MUSULMANES/AS EN ESPAÑA Y LA U.E.

En el transcurso de estos 20 años se ha producido un gran crecimiento en la comunidad islámica, pasando en los albores de los años 90 de 250 mil personas a la estimación actual de más de un millón y medio de musulmanes/as en nuestro país.

Las cifras cobran mayor importancia cuando hablamos del contexto de la Unión Europea, en la que se estima esta presencia en torno a los 32 millones de personas distribuidos así:

- Alemania: 8 millones de musulmanes/as procedentes de Turquía y Pakistán,
- Inglaterra con 6 millones de diversos orígenes, pero se estima que solo la presencia pakistaní en un localidad (Birmingham) asciende a 1 millón de musulmanes/as de este origen,
- Francia con 5 millones.
- Italia y Bélgica: 3 millones cada respectivamente.

CONTENIDO DE LOS ACUERDOS DE COOPERACIÓN

Se resumen en 14 artículos que contienen los siguientes aspectos:

Artículo 1: Sobre el modelo de funcionamiento y legalización de entidades islámicas a través de la Comisión Islámica de España y el conjunto de sus competencias.

Artículo 2: Sobre la regulación de los lugares de culto (mezquitas), lugares de enterramiento y las características de los mismos.

Artículos 3, 4 5 y 6: Sobre dirigentes religiosos e Imanes, la impartición por éstos de la educación religiosa islámica en la escuela pública y el estatuto laboral de los profesores y dirigentes religiosos que intervengan en la escuela pública.

Artículo 7: El reconocimiento del matrimonio islámico y su inscripción en el registro civil para su validez a todos los efectos.

Artículos 8 y 9: El reconocimiento de los derechos de los musulmanes/as a la asistencia religiosa en el ejército, prisiones, hospitales y otros centros de carácter asistencial.

Artículo 10: El derecho de los niños y niñas musulmanes a recibir la enseñanza religiosa islámica en la escuela pública.

Artículo 11: Del régimen fiscal a todos los niveles de las entidades religiosas islámicas y la relación completa de exención de impuestos por su carácter.

Artículo 12: El derecho de los/as musulmanes empleados a disfrutar del calendario festivo contemplado en el Acuerdo de Cooperación.

Artículo 13: El acuerdo de cooperación en el inventario, conservación y promoción del Patrimonio Histórico Artístico y Cultural Islámico.

Artículo 14: Atendiendo a su dimensión espiritual, el derecho a acceder a una alimentación Halal (se reproduce completo a continuación):

1. De acuerdo con la dimensión espiritual y las particularidades específicas de la Ley Islámica la denominación "HALAL" sirve para distinguir los productos alimentarios elaborados de acuerdo con la misma.

2. Para la protección del uso correcto de estas denominaciones, la Comisión Islámica de España deberá solicitar y obtener del Registro de la Propiedad Industrial los registros de marca correspondientes, de acuerdo con la normativa legal vigente.

Cumplidos los requisitos anteriores, estos productos, a efectos de comercialización, importación y exportación tendrán la garantía de haber sido elaborados con arreglo a la Ley Islámica, cuando lleven el correspondiente distintivo de la Comisión Islámica de España.

3. El sacrificio de animales que se realice de acuerdo con las leyes islámicas, deberá respetar la normativa sanitaria vigente.

4. La alimentación de los internados en Centros o Establecimientos públicos y dependencias militares y la de los alumnos musulmanes de los Centros docentes públicos y privados concertados que lo soliciten se procurará adecuar a los preceptos religiosos islámicos, así como el horario de comidas durante el mes de ayuno (Ramadán).

3. EL INSTITUTO HALAL Y LA MARCA DE GARANTÍA HALAL DE JUNTA ISLÁMICA

Tras más de 10 años de reiterados incumplimientos por parte de las distintas administraciones de la Ley de los Acuerdos de Cooperación, la asociación Junta Islámica decide poner en marcha en 1.998 una iniciativa particular, creando una comisión de trabajo denominada “INSTITUTO HALAL” con el encargo específico de registrar una MARCA DE CALIDAD.

EI INSTITUTO HALAL DE JUNTA ISLÁMICA obtiene la Marca de Garantía en agosto del 2003 tras más de tres años de elaboración de manuales, y la obtención de los informes favorables del procedimiento Halal por la Consejería de Agricultura de la Junta de Andalucía y del Ministerio de Agricultura de la Administración Central.

“MARCA DE GARANTÍA HALAL DE JUNTA ISLÁMICA”



**Registrada en la Oficina de Patentes y Marcas
con nº: M 2466790 0 y fecha 15/08/03**

Por tanto el Instituto Halal forma parte de una entidad religiosa islámica sin ánimo de lucro, que persigue con el uso de la Marca de Garantía Halal los siguientes objetivos:

1. Dar cumplimiento al artículo 14 de la Ley de los Acuerdos de Cooperación, poniendo a disposición de los/as consumidores/as musulmanes/as una amplia gama de productos que garanticen su alimentación acorde a la Ley Islámica (Sharia).
2. Favorecer valores de cooperación e integración desde la comunidad musulmana hacia al resto de la sociedad, compartiendo nuestro concepto de alimentación Halal, como alimentación “saludable para todos”. Es un hecho que los parámetros de la alimentación Halal coinciden en la mayor parte de sus aspectos con las prácticas “saludables” recomendadas e impulsadas por los organismos de preservación de la salud, tanto internacionales como nacionales.

3. Colaborar con la industria alimentaria española en la apertura de nuevos mercados, tanto en el marco de la U.E como en la exportación a países de mayoría islámica, dado que es un requisito cada vez más demandado en dichos países que los productos de alimentación porten la certificación halal que garantiza el cumplimiento de la Ley Islámica.
4. Elaborar un modelo de certificación que de respuesta a los avances de la tecnología alimentaria del siglo XXI.

¿Cómo da respuesta el Instituto Halal a las demandas de certificación?

El Instituto Halal dispone de una estructura de funcionamiento que garantiza al cien por cien que los productos alimenticios destinados al mercado islámico son HALAL.

El Instituto está organizado en áreas de trabajo que responden a las necesidades técnicas que requiere la aplicación y control de la Marca de Garantía Halal:

- Dirección
- Área de Certificación
- Área de Control de la Marca e Inspección
- Área de Planificación y Comunicación
- Área de Desarrollo y Comercialización
- Área de Relaciones Internacionales
- Área de Administración y Asesoría Legal
- Área Salud y Alimentación Halal
- Área de RRHH y Formación

Igualmente dispone de equipos de trabajo estables en Catalunya y Madrid, compartiendo iniciativas público/privadas con instituciones como el Ayuntamiento de Sevilla y Córdoba, la Diputación de Córdoba, la Generalitat

de Catalunya, etc., a través de oficinas promoción exterior que ayudan a la comercialización de los productos halal en sus áreas de competencia.

EL MODELO DE CERTIFICACIÓN DE GARANTÍA HALAL

La base del modelo de certificación halal se desarrolla desde el cumplimiento de la Ley Islámica en cuanto a lo que se considera HALAL o permitido/saludable y HARAM como prohibido/perjudicial.

¿QUÉ ES HALAL?

Cuando este término se aplica a productos, implica que éstos son aptos para ser consumidos por musulmanes.

Para que un alimento o bebida sea considerado Halal, debe ajustarse a la normativa islámica recogida en El Corán, en las tradiciones del Profeta, y en las enseñanzas de los juristas islámicos. Según ellas:

- Debe estar exento de cualquier sustancia o ingrediente no lícito o de cualquier componente que proceda de un animal prohibido,
- Debe ser un producto elaborado, manufacturado y/o almacenado usando utensilios o maquinaria que se ajuste a lo que estipula la normativa islámica y las normas sanitarias españolas.
- No debe ponerse en contacto con una sustancia o producto prohibido durante su elaboración, producción, procesado, almacenamiento y transporte.
- Los animales deben ser sacrificados de acuerdo con lo prescrito por la Ley Islámica:
 - o Garantizando el mínimo sufrimiento al animal
 - o Sacrificado de forma rápida cortando las principales arterias en la zona del cuello del animal y garantizando igualmente que los utensilios empleados en ello son los idóneos para el sacrificio

- o Que la persona que lo realice (el matarife) sea un creyente, preferiblemente musulmán y lo realice en el nombre de Dios (ALA).
 - o Que una vez sacrificado y en un periodo no superior a los 30 minutos, (estimamos el óptimo en 20 minutos) el animal haya quedado desangrado totalmente, quedando marcado en diversas partes de su cuerpo por la Marca de Garantía Halal.
- Los pescados se consideran Halal. Hemos recibido demandas de certificación Halal de granjas de pescados, y esta demanda viene motivada por la necesidad de garantizar los piensos con los que se alimentan los pescados de granja.

Cuando el término Halal se aplica a establecimientos del sector Servicios, significa que estos cumplen las condiciones requeridas por los musulmanes en cuanto a comidas, local dedicado a la oración e instalaciones necesarias para la práctica de las abluciones.

¿QUÉ ES HARAM?

Se consideran productos Haram, según la normativa islámica:

- La carne del animal hallado muerto, la sangre, la carne de cerdo y jabalí y sus derivados y aquellos animales sobre los que se ha invocado un nombre distinto al de Dios.
- El animal muerto por asfixia, estrangulamiento, apaleado, por una caída, de una cornada o devorado por una fiera, salvo si estando aún vivo ha sido debidamente sacrificado.

- Los animales carnívoros y carroñeros.
- Las aves con garras.
- El alcohol, las bebidas alcohólicas, las sustancias nocivas ó venenosas, y las plantas o bebidas intoxicantes.
- Partes de animales que se hayan cortado mientras estaban vivos.
- Ingredientes procedentes de animales prohibidos o de animales no sacrificados de forma Halal.
- Todos aquellos productos que se incorporan de forma artificial a los alimentos o preparados cárnicos como conservantes, colorantes, aromas, etc., que cuenten en su origen de elaboración ingredientes considerados Haram.

ALIMENTOS DUDOSOS

Son aquellos que no permitan determinar claramente su origen, o haya diferencias en su valoración en las diferentes tradiciones coránicas, en cuyo caso cada musulman/a decide su posición personal ante ellos. El Instituto Halal prefiere no emitir certificaciones ante alimentos dudosos, como por ejemplo, los animales provenientes de la caza, dado que resulta bastante complicado aplicarles nuestro modelo de control para ofrecer el máximo de garantías a los/as consumidores/as.

EL MODELO DE CERTIFICACIÓN EN 10 PASOS

El modelo de Certificación de Garantía Halal se apoya en dos documentos fundamentales:

- o El Reglamento de Uso
- o El Manual de Procedimiento

Ambas se controlan a través de auditorías de industrias/servicios y de productos, y en la actualidad dichas auditorías de control las realiza por encargo del Instituto Halal, el Instituto Comunitario de Certificación (ICC), entidad reconocida por ENAC para la certificación de producto.

El Instituto Halal ha diseñado un procedimiento que cumpla los parámetros de cualquier otra certificación de calidad, adaptando los requisitos al cumplimiento de la Ley Islámica,

El Instituto Comunitario de Certificación actúa en las industrias en base a los Pliegos de Condiciones por tipología de productos elaborados por el Instituto Halal, y en base al informe de auditoría, se expide el Certificado de Conformidad de Producto Halal.

De entre el conjunto de requisitos que implican el cumplimiento de la normativa Halal, destacamos en el caso de los elaborados de cualquier tipo el control a través de la realización de analíticas de:

- o ADN de porcino
- o De contenido en alcohol

Ambas realizadas siempre en laboratorios homologados.

El Reglamento de Uso y el Manual de Procedimiento recogen el conjunto de la normativa Halal y la manera de aplicarlo. Hemos establecido un procedimiento basado en DIEZ PASOS que realizan las industrias o entidades que solicitan la Certificación de Garantía Halal:



QUIERO OBTENER LA CERTIFICACIÓN DE GARANTIA HALAL

¿QUÉ TENGO QUE HACER?

UNA GUÍA DE 10 PASOS



QUIERO OBTENER LA CERTIFICACIÓN DE GARANTIA HALAL

¿QUÉ TENGO QUE HACER?

UNA GUÍA DE 10 PASOS

1 – INFORMACIÓN INICIAL

1 semana

Cuando una Empresa solicita por primera vez información, el Instituto Halal le facilita la siguiente documentación:

- Presentación del Instituto Halal
- Resumen de reglamentación
- Documentación de solicitud
 - Solicitud de empresa
 - Impreso normalizado
 - Solicitud de producto
 - Solicitud de autorización del matarife

1 de 10



QUIERO OBTENER LA CERTIFICACIÓN DE GARANTIA HALAL

¿QUÉ TENGO QUE HACER?

UNA GUÍA DE 10 PASOS

2 – VISITA PRELIMINAR

2 semanas

Un técnico del Instituto Halal realiza una visita a la Empresa con los siguientes objetivos:

- Explicar el funcionamiento del Instituto Halal (Entrega de dossier y vídeo)
- Explicar la reglamentación original: (Reglamento de Uso, Manual de Procedimientos, Pliego de condiciones)
- Estudiar el presupuesto de la certificación

2 de 10



QUIERO OBTENER LA CERTIFICACIÓN DE GARANTIA HALAL

¿QUÉ TENGO QUE HACER?

UNA GUÍA DE 10 PASOS

3 – SOLICITUD DE CERTIFICACIÓN

2 semanas

Tras la visita preliminar, la Empresa deberá cumplimentar y enviar al Instituto Halal los siguientes documentos:

- Solicitud de Empresa
- Solicitud de Producto
- Solicitud de Operario
- Impreso Normalizado
- Presupuesto aprobado

3 de 10



QUIERO OBTENER LA CERTIFICACIÓN DE GARANTIA HALAL

¿QUÉ TENGO QUE HACER?

UNA GUÍA DE 10 PASOS

4 – CONTRATACIÓN

2 semanas

Tras recibir el Instituto Halal la anterior documentación, envía a la Empresa una propuesta de contrato que recoge los acuerdos establecidos entre ambas partes.

- Contrato
- Apertura del expediente
- Comunicación inter-departamental
 - Convocatoria del equipo auditor
 - Comunicación departamento comercial
 - Aviso a la Dirección

4 de 10



QUIERO OBTENER LA CERTIFICACIÓN DE GARANTIA HALAL

¿QUÉ TENGO QUE HACER?

UNA GUÍA DE 10 PASOS

5 – AUDITORIA HALAL

2 semanas

Una vez firmado el contrato, el Instituto Halal procede a realizar una Auditoria a la Empresa:

- Solicitud de Auditoria
- Programa de Auditoria
- Acta de la Auditoria
- Informe de Auditoria

5 de 10



QUIERO OBTENER LA CERTIFICACIÓN DE GARANTIA HALAL

¿QUÉ TENGO QUE HACER?

UNA GUÍA DE 10 PASOS

6 – TOMAS DE MUESTRAS / ANÁLISIS

1 semana

La auditoria conllevará, si procede, una toma de muestras que serán analizadas en laboratorios acreditados por el Instituto Halal:

- Solicitud de analítica
- Informe de analítica

6 de 10



QUIERO OBTENER LA CERTIFICACIÓN DE GARANTIA HALAL

¿QUÉ TENGO QUE HACER?

UNA GUÍA DE 10 PASOS

7 – ESTUDIO DE LA DOCUMENTACIÓN

2 semanas

El IH estudia la siguiente documentación:

- Solicitud
- Informe de Auditoria
- Resultados Analíticos
- Diseño de la etiqueta

7 de 10



QUIERO OBTENER LA CERTIFICACIÓN DE GARANTIA HALAL

¿QUÉ TENGO QUE HACER?

UNA GUÍA DE 10 PASOS

8 – EMISIÓN DE LA DOCUMENTACIÓN ACREDITATIVA

2 semanas

Tras realizar el estudio de toda la documentación, el Instituto Halal procede a la emisión de las siguientes acreditaciones:

- Informe de Certificación
- Licencia Halal
- Certificado de Conformidad Halal
- Autorización de operarios Halal
- Cesión de Uso de la Marca de Garantía Halal
- Aprobación de la etiqueta

8 de 10



QUIERO OBTENER LA CERTIFICACIÓN DE GARANTIA HALAL

¿QUÉ TENGO QUE HACER?

UNA GUÍA DE 10 PASOS

9 – SEGUIMIENTO DE LA CERTIFICACIÓN

Tras la Certificación el Instituto Halal mantiene un contacto periódico con la industria, a varios niveles:

- Dirección – Carácter anual
- Desarrollo – Carácter quincenal
- Inspección y Control – Carácter permanente
- Certificación – Carácter permanente
- Administración y Facturación - Carácter permanente
- Información - Carácter permanente

P
E
R
M
A
N
E
N
T
E

9 de 10



QUIERO OBTENER LA CERTIFICACIÓN DE GARANTIA HALAL

¿QUÉ TENGO QUE HACER?

UNA GUÍA DE 10 PASOS

10 – CONTACTAR

Contacto con el Instituto Halal

Teléfono: 957634005
info@institutohalal.com
certificacion@institutohalal.com
www.institutohalal.com

10 de 10

PROYECTOS DE FUTURO

1. impulsamos la creación de una comisión parlamentaria que proponga al gobierno la aprobación de un reglamento general sobre alimentación halal en España.
Con las CCAA, trabajamos en la elaboración de pliegos de condiciones específicos para elaborar una normativa halal en el ámbito de la CCAA.
2. Hemos iniciado los procesos de homologación del Instituto Halal como entidad certificadora por los organismos oficiales españoles en materia de certificación: Norma ISO 9000 (AENOR) y Norma EN- 45.100 para producto (ENAC). Registro de la Marca como Comunitaria.
3. Creación y convocatoria de un Comité Científico y Técnico para el Simposio Internacional “La alimentación Halal en el Siglo XXI”.

SACRIFICIO HALAL Y BIENESTAR ANIMAL

Bouzraa, S.

Departamento de Inspección y Control. Instituto Halal.

Almodóvar del Río.

14720- Córdoba (España)

E-mail: said.bouzraa@institutohalal.com // v82bopes@uco.es

1. INTRODUCCIÓN

Siguiendo el orden cronológico y teniendo en cuenta los profetas representantes de las religiones más importantes me gustaría empezar esta intervención con algunos dichos y/o hechos referentes al tema del bienestar animal y citamos lo siguiente:

En un hecho del profeta Moisés, “un día se le escapó una ovejita del rebaño y la siguió corriendo hasta que el animal se cansó y paró entonces la cogió en sus brazos, percibió sus latidos y le dijo te has hecho cansar a ti y a mi, no la castigó y la llevó al rebaño”.

Y en un dicho del profeta Jesús: “absteneos de la sangre de los estrangulados, de los cuerpos muertos de las aves y otros animales, y guardaos de toda acción cruel y de toda injusticia. Pues ¿creéis que la sangre de pájaros y otros animales puede lavar pecados? ¡Os digo que no! Decid la verdad. Sed justos, sed misericordiosos con vuestro prójimo y con todas las criaturas que aquí viven, y andad humildemente con vuestro Dios”.

De una forma resumida sobre la protección animal en mataderos y sacrificio religioso me gustaría cerrar este orden cronológico con un dicho del Profeta Muhammad donde describe claramente este concepto” Dios ha escrito el bienestar para todos, si matáis a los bichos u otros animales que suponen un riesgo hacedlo bien de manera que sufra lo menos posible, y si vais a sacrificar hacedlo bien y que afile bien su cuchillo aquel de vosotros

designado para dicho sacrificio y que haga descansar a su animal sacrificado”. ***Relató Abu Ila’la, Shaddad Ibn Aus- Dios esté complacido con él-, que el mensajero de Dios –la paz y las bendiciones de Dios sean con él- dijo: “Ciertamente, Dios prescribió la benevolencia en todos los asuntos; entonces, si matáis matad bien, y si degolláis, degollad bien. Así púes que cada uno afile su cuchillo y no haga sufrir al animal que degolló.” Lo transmitió Muslim.***

Por último no olvidarnos del arca de Noe que ha sido una salvación histórica de los animales, hay unos versos en el corán sobre este profeta y concretamente sobre este acontecimiento histórico.....”.....***y entonces le inspiramos(a Noé): Construye, bajo nuestra mirada y según nuestra inspiración, el arca. Y cuanto llegue Nuestro decreto, y las aguas broten a torrentes sobre la faz de la tierra, lleva a bordo de este (arca) a una pareja de cada (clase de animal), de ambos sexos....., Ciertamente, en esta historia hay en verdad mensajes para quienes reflexionan: pues ciertamente, siempre estamos poniendo a prueba al hombre”.*** Sura 23, Versos: 23-30.

Desde el Instituto Halal, la entidad española islámica de certificación halal, y para la cual llevo a cabo las tareas de control e inspección, venimos promoviendo un debate abierto sobre este punto, manteniendo un firme compromiso en la mejora del bienestar animal, así como la defensa de los derechos de los consumidores musulmanes para acceder a los alimentos halal. En consecuencia estamos abiertos a todos aquellos argumentos, ideas y propuestas que desde este foro surjan, así como pedimos se tenga en cuenta nuestras necesidades, preceptos y bases religiosas a la hora de evaluar y analizar los procedimientos actuales y las posibles mejoras de cara al futuro compartido en el que ya estamos viviendo.

Después de esta pequeña introducción me gustaría hacer hincapié sobre el apartado “sacrificio religioso” en especial el sacrificio Halal, que es

aquél que cumple con la normas de la Sharia o Ley Islámica, con el objetivo de dar una idea clara sobre este tema y abrir el campo de las posibles preguntas que intentaremos aclarar para enriquecer ese debate.

2. SACRIFICIO RELIGIOSO

De modo inicial expongo los puntos en común que tienen los diferentes sacrificios religiosos como Halal o Kosher:

1. Los animales son sacrificados invocando el Nombre de Dios y con un uso exclusivamente alimentario.
2. El matarife tiene que ser creyente de dicha religión, además de tener la formación acreditada necesaria para realizar este tipo de sacrificios. En cualquier caso, actuarán bajo la supervisión del veterinario oficial.
3. En ambas religiones el sacrificio consiste en degollar al animal en general.
4. Sujeción de los animales de la especie vacuna antes de su sacrificio mediante un procedimiento mecánico.

Como puntos de mayor discusión actualmente se encuentra el aturdimiento. En este sentido la ley europea obliga a hacer aturdimiento previo al sacrificio del animal, haciendo una excepción para los rituales halal y kosher.

- **Sacrificio según la ley islámica o “Halal”**

➤ Que es un sacrificio Halal?

La esencia del sacrificio Halal se puede encontrar en el siguiente versículo:

“El sacrificio en la ley islámica, equivale a hacer que fluya la sangre por el corte de las venas del animal sacrificado, o por el degüello del degollado, o por el disparo al animal salvaje que no se puede alcanzar de otro modo, con la intención del sacrificio para Allah, mencionando su nombre”; antes de hacer la incisión, el corte o el disparo pronunciar “Bismillah wa Allahu Akbar” (en el nombre de Allah, Él es el más grande).

Los musulmanes reconocen tres tipos de sacrificio halal:

- Dakat: sacrificio de vacuno, ovino, equino y aves.
- Nahr: Apuñalamiento en camellos y dromedarios.
- Oqv: Mediante una flecha en animales salvajes.

➤ Sobre el significado de Halal

Para esta breve exposición también me gustaría leerlos las definiciones de los siguientes términos, centrándome en la palabra Halal y su amplio sentido que como podrán ver no sólo se refiere al sacrificio animal.

“Halal”: permitido, autorizado o saludable.

“Sacrificio”: La muerte de un animal por desangrado.

“Matanza”: Todo procedimiento que provoque la muerte de un animal.

“Aturdimiento”: Todo procedimiento que, cuando se aplique a un animal, provoque de inmediato un estado de inconsciencia que se prolongue hasta que se produzca la muerte del animal por desangrado, que puede ser reversible o irreversible.

➤ **De los productos Halal o lícitos**

Artículo 3º reglamento de uso de la marca de garantía halal.

Como hemos dicho la palabra Halal significa "permitido, autorizado o saludable".

Se considera Halal todo aquello que no está expresamente indicado como Haram.

I) Cuando este término se aplica a alimentos o bebidas, implica que éstos son aptos para ser consumidos por musulmanes.

Para que un alimento o bebida sea considerado Halal, debe ajustarse a la normativa islámica recogida en El Corán, en las tradiciones del Profeta, y en las enseñanzas de los juristas islámicos. Según ellas:

1.1 Debe estar exento de cualquier sustancia o ingrediente no lícito (Haram), o de cualquier componente que proceda de un animal prohibido.

1.2. Debe ser un producto elaborado, manufacturado y/o almacenado usando utensilios o maquinaria que se ajuste a lo que estipula la normativa islámica y las normas sanitarias españolas.

1.3. No debe ponerse en contacto con una sustancia o producto prohibido durante su elaboración, producción, procesado, almacenamiento y transporte.

1.4. Los animales deben ser sacrificados de acuerdo con lo prescrito por la Ley Islámica.

1.5. Los pescados se consideran Halal, excepto los criados en piscifactorías o explotaciones que deberán asegurar el proceso de crianza y engorde del pescado.

1.6 Los alimentos deben estar compuestos por materias primas, ingredientes como conservantes, colorantes o aromas que en su origen o composición sean considerados Halal.

1.7. Los piensos y alimentos animales deben contener siempre ingredientes Halal.

II) Cuando el término Halal se aplica a establecimientos del sector Servicios, significa que estos cumplen las condiciones requeridas por los musulmanes en cuanto a comidas, local dedicado a la oración e instalaciones necesarias para la práctica de las abluciones.

III) Cuando el término Halal se aplica a productos de cosmética, perfumería, puericultura, materiales de parafarmacia e higiene industrial implica que los mismos se han elaborado conforme a la ley islámica y por lo tanto con un procedimiento Halal y están exentos en su composición de productos o ingredientes Haram y/o derivados.

IV) Cuando el término Halal se aplica a productos bancarios implica que los mismos cumplen con las condiciones exigidas por la Ley Islámica, en cuanto a la exención de intereses y demás parámetros de la economía islámica.

V) Cuando el término Halal se aplica a ciudades significa que la misma ofrece productos y servicios acorde con la ley islámica, así como hoteles, restaurantes, puntos de venta y paquetes turísticos.

Así mismo es una ciudad que contiene los valores saludables respecto al consumo, el desarrollo y la vida en general.

➤ **De los productos Haram ó ilícitos**

Artículo 4º reglamento de uso de la marca de garantía halal.

Haram se puede traducir como lo prohibido o dañino. Se consideran así, según la normativa islámica:

- La carne del animal hallado muerto, la sangre, la carne de cerdo y jabalí y sus derivados y aquellos animales sobre los que se ha invocado un nombre distinto al de Dios.
- El animal muerto por asfixia, estrangulamiento, apaleado, por una caída, de una cornada o devorado por una fiera, salvo si estando aún vivo ha sido debidamente sacrificado.
- Los animales carnívoros y carroñeros.
- Las aves con garras.
- El alcohol, las bebidas alcohólicas, las sustancias nocivas ó venenosas, y las plantas o bebidas intoxicantes.
- Partes de animales que se hayan cortado mientras estaban vivos.

Ingredientes procedentes de animales prohibidos o de animales no sacrificados de forma Halal.

➤ **De los productos Mashbooh o dudosos**

Artículo 5º reglamento de uso de la marca de garantía halal.

Se consideran así, según la normativa islámica, los productos o ingredientes dudosos que a causa de la dificultad en conocer el momento y forma de su origen, o sacrificio en caso de los animales, causan más dificultades para garantizar su licitud.

Por regla general los productos dudosos no entran en los parámetros de lo halal y siempre que sea posible es mejor evitarlos.

3. PROCEDIMIENTO DE SACRIFICIO HALAL:

Pliego de condiciones para sacrificio Halal

Tras esta visión general sobre el amplio sentido del concepto Halal nos vamos a centrar en el procedimiento previo, durante y posterior del sacrificio animal:

3.1 Transporte de animales vivos

El transporte de animales se realizará en vehículos apropiados de forma que el animal no sufra molestias innecesarias o alteraciones que puedan afectar su estado o integridad física. Se cumplirá en todo caso la normativa vigente.

3.2 Periodo de reposo

El tiempo de reposo, será como mínimo, el imprescindible para conseguir sus fines, y en todo caso se cumplirá la legislación vigente (RD 147/1993 de 29 de Enero).

3.2 Sacrificio

Los mataderos deberán reunir las condiciones técnico-sanitarias exigidas por la legislación vigente.

El sacrificio deberá realizarse en los mataderos inscritos en el Registro correspondiente del Instituto Halal o de cualquier entidad islámica autorizada.

Además de los métodos legalmente autorizados para el proceso de sacrificio, desollado y eviscerado, se deberán cumplir los siguientes requisitos para considerar un sacrificio Halal:

- Debe sacrificarse al animal invocando el nombre de Allah, con la cabeza orientada en dirección a Meca, siempre que sea posible.
- Procurar causar el menor sufrimiento posible al animal.
- Al sacrificar al animal, debe realizarse un corte limpio sobre las principales vías sanguíneas y respiratorias.
- El animal debe ser desangrado en un periodo de tiempo que no excederá el estipulado por la legislación sanitaria vigente, aunque el I.H. recomienda como idóneo un período que garantice el mejor desangrado del animal.
- Los utensilios y maquinaria deben estar dentro de un plan de limpieza y desinfección con registros que acrediten su perfecto estado, estando en condiciones óptimas para garantizar la rapidez y limpieza del proceso de sacrificio y reducir al máximo el sufrimiento del animal.
- El sacrificio y/o supervisión del mismo debe llevarlo a cabo un/a musulmán/a practicante, que conozca adecuadamente las condiciones de un sacrificio Halal. El/La matarife deberá estar acreditado/a y autorizado/a por el Instituto Halal y deberá asumir la formación laboral necesaria para mejorar su actividad.
- Sólo pueden sacrificarse animales vivos y sanos, tal y como exige la legislación vigente.
- El animal debe estar muerto antes de proceder a desollarlo.

3.3 Registro

Cada partida que sea sacrificada como Halal deberá ser anotada en un Libro de Registro donde figure todos los datos de la misma. Dichos datos se enviarán trimestralmente a la entidad certificadora.

Respecto al aturdimiento es un asunto que se está debatiendo a nivel mundial y aunque bien es cierto que no existe un consenso dentro de la comunidad islámica, la mayoría de los organismos halal aceptan la posibilidad de un aturdimiento previo al sacrificio, siempre y cuando el animal se encuentre vivo en el momento de su sacrificio. El criterio más común es permitir aquellos aturdimientos que en caso de que el animal no fuera finalmente sacrificado pudiera recuperarse sin ningún tipo de lesión irreversible. Así pues son aceptados el aturdimiento eléctrico y por regla general está prohibido el aturdimiento por pistoletazo cerebral. Habitualmente el consumidor halal es reacio al aturdimiento puesto que ve estas cuestiones como un mero requisito para aumentar la producción industrial en detrimento de sistemas productivos más caseros y no como una forma de mejorar el bienestar animal.

4. CONCLUSIONES:

La conclusión más importante que alcanzamos en esta exposición es la necesidad de colaborar con la comunidad de veterinarios y Asociaciones de Bienestar Animal, para dar a conocer los procedimientos y condiciones de sacrificio, producción y venta halal, con el objetivo de que se puedan entender determinadas pautas de actuación entre los matarifes, inspectores y organismos de certificación Halal, así como desarrollar normativas que tengan en cuenta dichas pautas.

Otra conclusión es la necesidad de crear un foro permanente de discusión sobre el Sacrificio Halal, donde profundizar en aspectos como el Bienestar Animal, el Aturdimiento, el Box Giratorio para sacrificio de vacuno o el Sacrificio automático de aves.

Por último es importante afianzar y consolidar distintivos Halal que tengan una reglamentación, un procedimiento de calidad y reconocimiento internacional ya que los consumidores buscan el cumplimiento de los requisitos Halal, valorando estos por encima de los requisitos sanitarios o de calidad. Estos distintivos, como la Marca de Garantía Halal Española, se han convertido en sinónimo de confianza y seguridad alimentaria para los consumidores musulmanes.

Hay unos versos en el Corán que tratan el tema Haram/Halal relacionado con el sacrificio de los animales, concretamente los versos 3, 4, 5 de la sura 5 (Al Ma'ida) con los cuales me gustaría terminar esta intervención quizás nos dan una idea global y clara sobre este tema desde un punto de vista religioso y posibles interrogatorios que intentaremos aclarar en esa intervención.

Los versos traducidos en su significado aproximado son como sigue:

Verso 3:

“Os está prohibido todo animal hallado muerto, la sangre, la carne de cerdo y aquello sobre lo que se ha invocado un nombre distinto del de Dios, y el animal muerto por asfixia, apaleado, o de una caída, o de una cornada o devorado por una fiera, salvo si estando aún vivo lo sacrificáis, y todo aquello que haya sido sacrificado en altares idólatras.

.....Pero quien se vea empujado (a usar lo prohibido) por necesidad extrema y no con animo de transgredir—ciertamente, Dios es indulgente, dispensador de gracia”.

Verso 4:

“Te preguntaran que les está permitido. Di: Os están permitidas todas las cosas buenas de la vida.

Y en cuanto a esos animales de caza que adiestráis impartiendoles parte del conocimiento que Dios os ha impartido a vosotros—comed de lo que cacen para vosotros, pero mencionad antes el nombre de Dios sobre ello, y manteneos conscientes de Dios: en verdad Dios es rápido en ajustar cuentas”.

Verso 5:

“Hoy os han sido hecho lícitas todas las cosas buenas de la vida. Y os es lícita la comida de quienes recibieron la revelación con anterioridad y vuestra comida es lícita para ellos.

5. REFERENCIAS

El mensaje del Qur'an, traducción del árabe y comentarios Muhammad Asad.
Los cuarenta Hadices Nawawiyah, Ahmed von Denffer, explicación Nezar
Ahmed Al-Sabbagh.

Reglamento de uso de la marca de garantía halal, Instituto Halal.

Pliego de condiciones para sacrificio halal, Instituto Halal.

REACCIONES ADVERSAS A LOS ALIMENTOS: ALERGIA VS. INTOLERANCIA

Prats Buforn, F.

Centro Inmunológico de Cataluña

Correo electrónico:

1. INTRODUCCIÓN

La Academia Americana de Alergia e Inmunología clasifica las reacciones adversas a los alimentos (RAA) como aquellas reacciones que se producen tras la ingestión de un alimento, sus derivados o un aditivo contenido en ellos.

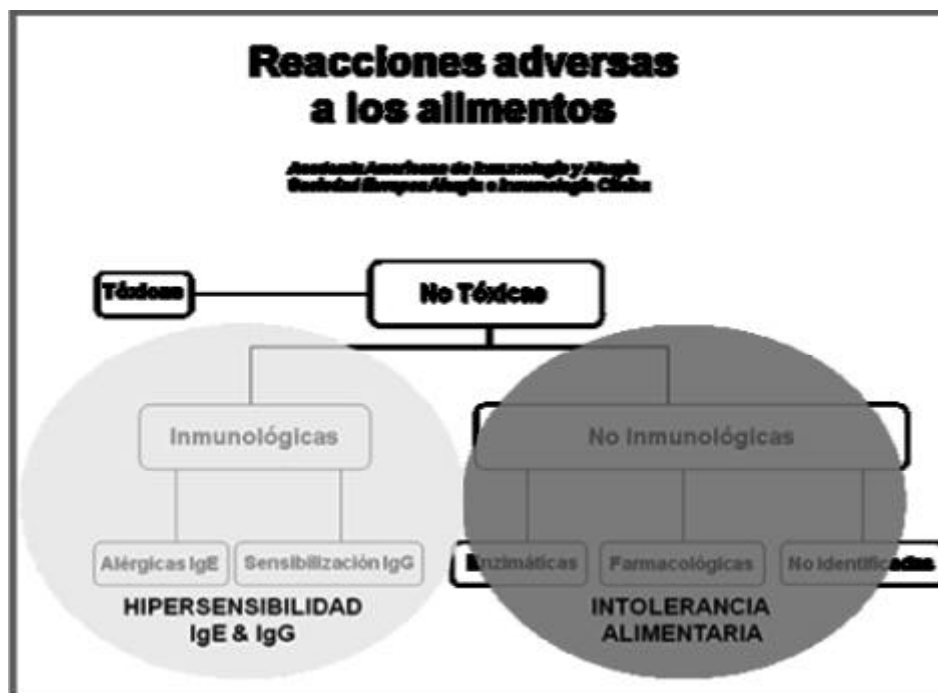
Los profesionales de la nutrición no tienen dificultad para diagnosticar aquellos casos que, tras comer un alimento, presentan una reacción inmediata dentro de segundos o minutos con eritema, prurito, angioedema o anafilaxis. El problema surge cuando el lapso entre la ingesta y la aparición de los síntomas es, al menos, de varias horas y/o la sintomatología no es de tipo histamínico y su manifestación es extra digestiva.

2. CLASIFICACIÓN DE LAS REACCIONES ADVERSAS A LOS ALIMENTOS

El Subcomité de Reacciones Adversas a Alimentos de la Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica (Tabla 1) propone la

siguiente clasificación basada en los mecanismos más que en las manifestaciones clínicas.

TABLA 1



2.1. Tóxicas

Afecta a prácticamente a toda la comunidad de individuos expuestos, pues dependen del alimento. Entre los ejemplos de contaminantes podemos citar las toxinas bacterianas, las micotoxinas, los metales pesados y los pesticidas

2.2. No Tóxicas

Son debidas a la susceptibilidad del individuo y no del alimento pueden depender de una predisposición genética, afectan a un número limitado de la población y entre ellas se distinguen varias posibilidades expresada en la (Tabla 2)

TABLA 2

	Tóxica	Alergia	Intolerancia
Factor individuo	No	Si	Si
Factor alimento	Si	No	NO
Etiología	Diversa	Inmunológica	No inmunológica

2.2.1. Con mediación del sistema inmunológico.

En la causa es interviene el sistema inmunológico con activación evidente activación del dispositivo inmunocompetente tanto a nivel celular como de producción de inmunoglobulinas y otros inmunomediadores

2.2.1.1. Tipo IgE

Es lo que se considera propiamente como alergia alimentaria y será ampliamente desarrollada en el apartado posterior de este capítulo. Las manifestaciones clínicas son de tipo histamínico: gastrointestinales, asma, rinitis, conjuntivitis, dermatitis atópica, urticaria, edema alérgico subcutáneo y anafilaxia.

2.2.1.2. No IgE mediadas

En este apartado se puede considerar la hipersensibilidad de tipo IgG, así como todo el grupo de enteropatías de tipo autoinmune (gluten)

2.3. No mediadas por el sistema inmunológico

Este grupo incluye todas aquellas reacciones adversas a los alimentos que actualmente son consideradas como intolerancia alimentaria y en los que no hay evidencia de intervención causal del sistema inmunológico.

Tal como se señala en la Figura 1 la Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica clasifica este apartado en tres grupos (enzimática, farmacológica y de causa desconocida) que serán desarrollados de forma exhaustiva el apartado específico que sobre este

tema incluye este capítulo sobre Intolerancia alimentaria como forma de reacción adversa a los alimentos

3. ALERGIA – HIPERSENSIBILIDAD ALIMENTARIA

Una persona consume durante su vida unas 3 toneladas de alimentos diferentes que el sistema digestivo procesa y los convierte en material útil para el crecimiento y mantenimiento de las células del organismo. Normalmente, el sistema inmunitario tolera bien esta diversidad de antígenos, pero en algunos casos, reacciona de forma patológicamente exagerada frente a algún antígeno alimentario, dando lugar a lo que se denomina “alergia alimentaria”.

Definimos la Alergia alimentaria como una reacción inmunológica exagerada que se produce como resultado de la ingesta de un alimento o de un aditivo alimentario. Esta reacción se da sólo en algunas personas, se puede producir después de la ingesta de cantidades muy pequeñas del alimento en cuestión y no tiene relación con ningún efecto fisiológico del alimento o aditivo.

Es una respuesta inmunológica de tipo inmediato (celular o humoral) y requiere que haya habido una primera exposición al alérgeno o a otro antígeno con el que tiene una reactividad cruzada. La primera exposición suele ser asintomática. El alérgeno, a través de la célula precursora, estimula a los linfocitos TH₂ a la producción de interleukinas (fig 1). La Interleukina 4, estimula a los linfocitos B a producir IgE específica para el antígeno, que se fija en la membrana del mastocito mediante receptores de alta afinidad, terminando aquí la denominada “**fase de sensibilización**”

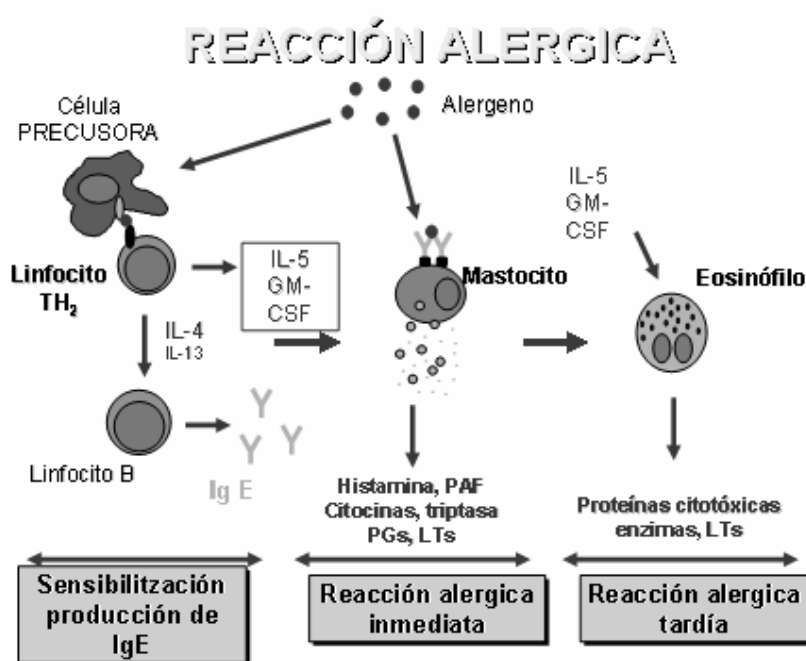


FIGURA 1

En un segundo contacto con el alérgeno, este se sitúa entre dos moléculas de IgE específicas, provocando un “cortocircuito” que producirá la degranulación del mastocito y la liberación de una serie de sustancias llamadas “sustancias mediadoras”. Algunas de ellas están preformadas en el interior del mastocito y se liberan activas al degranularse este, y otras se forman en el proceso de ruptura de la membrana mastocitaria (neoformadas).

Estas sustancias mediadoras serán las que darán lugar a la **reacción alérgica inmediata** que se produce 10-30 minutos después de la exposición y consiste fundamentalmente en vasodilatación con aumento de la permeabilidad capilar, contracción de la musculatura lisa y aumento de la secreción de moco.

Posteriormente puede producirse una reacción alérgica tardía (2 – 8 horas), tanto si persiste el contacto con el alérgeno como si no, ya que a través de la Interleukina 5 se estimula el factor quimiotáctico de los eosinófilos, que atrae a estas células al foco inflamatorio.

3.1. Factores de riesgo

3.1.1 Hereditarios/inmunológicos

- Historia de atopia familiar (mayor si es biparental)
- IgE elevada en sangre de cordón umbilical
- IgE total elevada en la infancia y la niñez
- Eosinofilia sanguínea elevada en la infancia

3.1.2 Estimulación ambiental específica

- Lactancia breve
- Presencia de antígenos alimentarios en la leche materna
- Ingesta temprana de alimentos alérgicos

3.1.3. Estimulación ambiental NO específica:

- Exposición intrauterina a humo de tabaco
- Exposición a humo de tabaco en la primera infancia
- Infecciones.

3.2. Vías de exposición

Las vías potenciales de exposición a alimentos en bebés y niños, que pueden llevar a la producción de IgE específica, son:

- Prenatal: por vía placentaria
- La leche materna durante la lactancia
- Las conocidas como fórmulas lácteas
- Los alimentos sólidos

3.3. Alérgenos alimentarios

Los alérgenos de los alimentos son proteínas o glicoproteínas con pesos moleculares que va desde unos 8 kD hasta unos 80 kD; si el peso molecular es inferior a 8 kD, precisan unirse a una proteína que actúe de “carrier”.

La estructura de los alérgenos alimentarios no es bien conocida, así como tampoco sus mecanismos de acción.

Según Aalberse y col (1997) la expresión “alérgeno alimentario” es ambigua, porque tiene, al menos, tres interpretaciones:

- Un alimento que reacciona con un anticuerpo del tipo IgE.
- Un alimento que induce sensibilización alérgica
- Un alimento que induce reacciones alérgicas

Para estos autores, hay alimentos que cumplen los tres apartados anteriores y les denominan “alérgenos completos”, pero es posible que un enfermo esté sensibilizado a un alimento, con test cutáneo positivo y en cambio no tenga síntomas cuando lo ingiere y también que estos síntomas dependan de la cantidad de alimento ingerido y de otros factores como la velocidad de tránsito intestinal.

Según Mygind (1986) la aparición o no de clínica y la gravedad o intensidad de la misma dependen de:

- Cantidad de alérgeno ingerido

- Degradación en el tracto gastrointestinal
- Permeabilidad epitelial del tracto gastrointestinal
- Cantidad de anticuerpos previamente sintetizados en la fase de sensibilización.
- Número de mastocitos afectados.
- Reactividad de la mucosa gastrointestinal.

Entre las razones que dan pie a que el tema de la alergia alimentaria sea controvertido esta el hecho de que:

- Muchos estudios científicos sobre el mismo tema, no llegan a las mismas conclusiones.
- No existen pruebas diagnósticas objetivas y reproducibles que eliminen los prejuicios y factores psicológicos personales (fobia a un alimento)
- Para complicar, aún más, la polémica, las definiciones de alergia alimentaria, intolerancia alimentaria, reacciones adversas, idiosincrasia, reacciones metabólicas, etc, no coinciden totalmente entre algunos autores.

La sensibilización a alérgenos alimentarios es mas frecuente en los primeros meses de vida y es, en esta época, en donde se encuentra la mayor incidencia, en particular la alergia a la proteína de leche de vaca. Es una patología frecuente en la infancia que va disminuyendo con la edad. El 70% aparece antes de los dos años y tan solo un 10% aparece después de los 8 años de vida Aunque la prevalencia exacta es desconocida, debido a la falta de consenso para el diagnóstico, se estima que la prevalencia en el niño es de un 0,5% a un 10% y en el adulto es de un 2%.

Se estima que el 98% de los alérgenos alimentarios son bloqueados por la barrera gastrointestinal

En la (Tabla 3) tenemos los grupos de alergenicos alimentarios más frecuentes y el aporte básico que proporcionan y que habrá que tener en cuenta en caso de dietas de exclusión:

TABLA 3

GRUPO I	Carnes, pescados, mariscos, huevos, legumbres secas	Aportan proteínas, lípidos y las legumbres también hidratos de carbono
GRUPO II	Leches y quesos	Aportan calcio, grasas y proteínas
GRUPO III	Aceites, mantequillas y margarinas	Aportan grasas y vitamina A
GRUPO IV	Cereales	Aportan hidratos de carbono
GRUPO V	Frutas	Aportan vitaminas y minerales
GRUPO VI	Verduras	Aportan vitaminas y minerales
GRUPO VII	Alimentos complementarios: Frutos secos, cacao, café, té, etc.	Aportan proteínas

3.3.1. Prevalencia

Estos son los últimos datos de prevalencia en suministrados por la Sociedad Española de Alergia e Inmunología.

Los alergenicos alimentarios más frecuentes en niños son:

- Derivados lácteos: Proteínas de leche de vaca: caseína, α -lactoalbúmina y β -lactoglobulina.
- Huevos: ovoalbúmina y ovomucoide son los antígenos mayores. El segundo es termoestable y además liberador espontáneo de histamina.
- La soja

- El cacahuete.

Los alérgenos alimentarios más frecuentes que en el adulto son:

- Frutos secos
- Fruta (melocotón, manzana, cereza, fresa, kiwi, etc)
- Pescados y mariscos. La gamba es la más frecuente. A tener en cuenta la patología alérgica inducida por anisakis.
- Leguminosas: cacahuete y lentejas ocupan el primer lugar.

3.3.2. Alergenos alimentarios especiales

La introducción de las nuevas técnicas diagnósticas han permitido identificar nuevos alérgenos alimentarios:

- Anisakis
- Látex
- Alimentos transgénicos.

Alergia al Anisakis simplex

La reacción alérgica al parásito *Anisakis simplex* se define como un cuadro alérgico agudo mediado por IgE, que se produce como respuesta frente al contaminante biológico del pescado y no frente a las propias proteínas del pescado. Siempre deberían excluirse, por una parte, la sensibilización a proteínas del propio pescado, entre otras causas de alergia que pudieran concurrir en el tiempo y, por otra, una parasitación aguda cuando aparecen síntomas digestivos, por muy leves que sean.

Las reacciones alérgicas al *Anisakis simplex* se producen, en los sujetos sensibilizados, tras la ingestión del pescado parasitado. Mientras que la anisakiosis gastrointestinal se puede prevenir mediante las medidas que garanticen la muerte del parásito, el tratamiento térmico convencional o

la congelación no garantizan siempre la protección frente a la aparición de manifestaciones alérgicas, habiéndose confirmado la termoestabilidad de algunos alérgenos implicados que no serían destruidos por la cocción.

La historia clínica de la alergia al Anisakis no es tan clara como en otro tipo de alergia alimentaria, ya que es posible que los pacientes no asocien sus síntomas a la ingestión del pescado, por presentar tolerancia al mismo entre los episodios (en función de la presencia o no de parásitos en la pieza consumida o de las características de su proceso de elaboración culinaria).

Alergia al látex

La sensibilización a látex puede manifestarse como alergia alimentaria por reactividad cruzada con frutas. Así, en la serie estudiada por Blanco y cols., los síntomas tras la ingestión de frutas precedieron o fueron simultáneos a la clínica por látex en casi la mitad de los pacientes. Las alergias más frecuentes fueron a aguacate, castaña, kiwi, plátano, papaya, higo, nuez y frutas rosáceas, variando las manifestaciones desde síndrome oral hasta anafilaxia sistémica. Por ello, debe descartarse sensibilización a látex en pacientes alérgicos a frutas, mediante historia clínica dirigida y prueba cutánea en prick.

Por otra parte, si los antígenos de látex se mezclan con alimentos, pueden ocasionar reacciones anafilácticas por ingestión, comportándose en este caso como alérgenos alimentarios ocultos. Esto ocurre cuando los manipuladores de los alimentos utilizan para su preparación guantes de látex, que al mezclarse con el alimento en cantidad suficiente, es capaz de ocasionar las reacciones. Se ha demostrado la presencia de alérgenos de látex en comida preparada con guantes, por lo que se recomienda que los manipuladores de alimentos no utilicen guantes de látex, con el fin de evitar la exposición inadvertida, vía digestiva, de los pacientes sensibilizados a él.

Alimentos transgénicos y alergia

Tanto la mejora genética clásica como la manipulación genética de los alimentos, persiguen obtener productos mejorados. Dado que un amplio número de alérgenos son proteínas de defensa, la selección de especies mejoradas llevará aparejada muchas veces un aumento progresivo de la expresión de diversos alérgenos. Hasta la fecha no se han realizado estudios que permitan evaluar si este proceso ha tenido un papel en el aumento de la prevalencia de las reacciones alérgicas a los alimentos.

Mediante técnicas de ingeniería genética se pretende, bien introducir, bien eliminar, determinados genes con el fin de obtener determinadas mejoras, sean nutricionales o comerciales.

Dado el relativo desconocimiento de las estructuras moleculares susceptibles de causar reacciones alérgicas, siempre que se introduce un gen exógeno por técnicas de ingeniería genética hay riesgo potencial de inducir reacciones alérgicas. En muchos casos este alérgeno se comportará como un alérgeno oculto, ya que no nos es posible conocer con anterioridad si el enfermo es alérgico o no a determinada proteína.

El primer caso de introducción de alérgenos exógenos por técnicas de ingeniería genéticas, se dio con la soja transgénica.

La primera actuación para establecer un protocolo de evaluación de la alergenidad de los alimentos modificados genéticamente, fue realizada en 1996. Actualmente la evaluación de la posible alergenidad de los nuevos alimentos transgénicos es una obligación legal dentro de la Unión Europea y de la OMS y la FAO.

Por otro lado, las técnicas de ingeniería genética pueden usarse también para silenciar, alterar e incluso eliminar genes que expresen alérgenos, produciendo así variedades hipoalérgicas. La alteración de un gen puede implicar:

- a) cambios en nucleótidos concretos (gen mutado)
- b) la introducción de un fragmento de DNA en el ya existente (gen híbrido).
- c) una delección de DNA (gen truncado o fragmentos de DNA).

A este nivel se está todavía en fase de investigación y de momento no tiene una aplicación comercial directa.

3.4. Reactividad cruzada

La inmunogénia es la capacidad intrínseca de un alérgeno para inducir la síntesis de IgE específica. La reactividad es la capacidad de provocar reacción alérgica a través de las IgE ya sintetizadas por una exposición previa. Cuando la reactividad se produce contra una proteína distinta al alérgeno que originó la sensibilización, pero que es homóloga a él, se habla de reactividad cruzada.

Este fenómeno se basa en la similitud entre la superficie molecular de las proteínas homólogas. Un grado de identidad en la secuencia de aminoácidos no superior al 25% puede ser suficiente para que dos proteínas se plieguen de modo equivalente y compartan una estructura terciaria común. Sin embargo, es necesario un mayor grado de identidad (> 70%) para que dos proteínas compartan aminoácidos expuestos en la superficie molecular y epítomos de IgE y, por tanto, para que la reactividad cruzada tenga lugar.

Un efecto interesante del fenómeno de reactividad cruzada es que la sensibilización primaria por inhalación de un alérgeno puede provocar la reacción alérgica posterior a otra fuente alérgica, cuya ruta de exposición sea distinta (por ejemplo, alimentaria). Muchas de las reacciones alérgicas frente a alimentos como frutas, vegetales y frutos secos están asociadas con alergia a pólenes.

En la Tabla 3 podemos ver las principales reacciones cruzadas entre pólenes y alimentos.

TABLA 3

ALIMENTO	POLEN
MANZANA, PERA	Gramíneas, Artemisa y Abedúl
MELOCOTÓN, CIRUELA	Gramíneas, Artemisa y Abedúl
PLATANO	
KIWI	Gramíneas, Artemisa y Abedúl
MANGO	Gramíneas y Abedúl
MELÓN	Gramíneas
NARANJA	Abedúl
PAPAYA	Látex
AGUACATE	Látex
GUISANTE	Artemisa
ZANAHORIA	Abedúl y Artemisa
PATATA	Abedúl
APIO	Gramíneas, Artemisa y Abedúl
SOJA	Abedúl
TOMATE	Gramíneas, Artemisa y Abedúl
CEBOLLA	Gramíneas
CURRY (Mezcla de especies)	Abedúl y Artemisa
PIMIENTA ROJA	Gramíneas y Artemisa
PIMIENTA	Gramíneas y Artemisa
CACAHUETE	Artemisa
NUECES	Abedúl, Artemisa y Avellano
CASTAÑA	Látex
HARINAS (Trigo, Centeno, Avena)	Gramíneas
ARROZ	Gramíneas
CRUSTACEOS	Ácaros
LÁTEX	Gramíneas, Artemisa, Frutas, Plátano, Kiwi, Melón, Aguacate, Papaya, Patata, Tomate, Cacahuete, Castaña

3.5. Manifestaciones clínicas

La expresión clínica de la alergia puede mostrar distintas formas:

3.5.1 Manifestaciones digestivas

Se presentan solas o asociadas en el 20-30 % de los pacientes. La reacción alérgica puede manifestarse con náuseas, vómitos, distensión y dolor abdominal, flatulencia y diarreas y suelen asociarse a síntomas extradigestivos sobretodo urticaria y angioedema.

3.5.2. Manifestaciones cutáneo-mucosas

La urticaria y el angioedema son las manifestaciones cutaneomucosas más frecuentes en la alergia alimentaria, presentes en el 80-85% de los enfermos.

La urticaria de contacto es la aparición de un habón en el punto en que ha contactado el alimento, a los 20 – 30 minutos del contacto. Suele desaparecer espontaneamente en menos de 24 horas.

Una variante de la urticaria de contacto es el síndrome oral, con la aparición de angioedema de labios y lengua y prurito bucal tras el contacto con el alimento.

La dermatitis atópica es un proceso inflamatorio de la piel que suele iniciarse en edades pediátricas. La alergia alimentaria está involucrada sólo en un 20% de las dermatitis atópicas y suele ser por alergia a la proteína de leche de vaca.

3.5.3. Manifestaciones respiratorias

La alergia alimentaria da manifestaciones respiratorias (asma o rinitis) en un porcentaje muy bajo de casos (3-5%).

Los sulfitos son unos aditivos con propiedades antioxidantes que pueden generar crisis de broncoespasmo en sujetos atópicos. Están en la cerveza, vinos y alimentos precocinados.

Mención aparte merece la patología ocupacional generada por la inhalación de polvo de alimentos. La forma mas conocida es el asma de los panaderos por inhalación de harinas, pero también se producen por inhalación de polvo de café, especias, pescados y mariscos.

3.5.4. Anafilaxia

Son reacciones alérgicas graves por alimentos que se producen como resultado de la súbita y masiva liberación inmunológica de los mediadores de los mastocitos y de los basófilos, que actúan de forma combinada sobre diferentes órganos diana y activan diversas vías patogénicas de la inflamación, dando lugar a manifestaciones sistémicas (respiratorias y/o cardiovasculares) que ponen en peligro la vida de los pacientes.

El primer caso documentado de una reacción mortal por alimentos fue descrito por von Starck en 1926. Un niño de 1,5 años de edad, con dermatitis atópica, había sufrido tres reacciones alérgicas generalizadas en su domicilio tras ingerir pequeñas cantidades de un pure de guisantes. En el hospital, se realizó una prueba de provocación oral con puré de zanahorias y guisantes. El paciente presentó inmediatamente después angioedema, cianosis y colapso, muriendo a pesar del tratamiento. En 1954, Evans y cols, notifican la primera reacción anafiláctica mortal por cacahuete. Una paciente de 24 años de edad, alérgica a este alimento, fallecía tras ingerir una pequeña porción de un dulce de almendras contaminado por cacahuetes. En los años 1996 y 1997 se comunican casos de pacientes que mueren tras inhalar los vapores de cocción de leche en polvo y de gambas, alimentos a los que eran alérgicos. En 1988, Yuginger y cols. publican la primera serie de anafilaxia mortal por alimentos. Los autores identificaron 7

casos en un periodo de 26 meses. Todas las víctimas eran atópicas y habían sufrido múltiples episodios anafilácticos por alimentos con anterioridad. Más recientemente, Pumphrey, en un estudio de todos los fallecimientos debidos a anafilaxia en el Reino Unido, en el periodo de 1992 a 1998, encontró que, de los 139 casos registrados, 39 (28%) habían sido provocados por alimentos, resultando la segunda causa de muerte por anafilaxia después de los fármacos. Los pacientes eran principalmente mujeres (69%), con edades de 8 a 67 años (media 22-24). Este trabajo constituye la serie más numerosa de las publicadas sobre anafilaxia mortal por alimentos.

Una forma especialmente grave de la anafilaxia por alimentos es la inducida por ejercicio que se describió por primera vez en 1980 por Sheffer y Austen. Se presenta, aunque no siempre, al hacer ejercicio poco tiempo después de haber ingerido ciertos alimentos como pueden ser gambas o apio, entre otros. El alimento o el ejercicio por separado no inducen el episodio de anafilaxis. Se distinguen dos tipos: las dependientes de un alimento específico y las que sólo requieren el estado postprandial para desencadenarlas. La medida preventiva más segura es evitar ingerir alimentos al menos dos horas antes o después del ejercicio. La fisiopatología es desconocida. Los alimentos que han sido citados con causa de anafilaxis inducida por ejercicio son: Apio, Avellana, Calamar, Frutos secos, Gambas, Harinas de cereales, Manzana, Mariscos, Ostras, Trigo, Trigo sarraceno.

3.6. Diagnóstico

En el estudio "Alergológica-92 se concluyó que el 3,6% de los pacientes que acuden a la consulta de un alergólogo en España presenta sensibilización a algún alimento lo que sitúa a la alergia alimentaria en el quinto lugar por su frecuencia.

No existen pruebas diagnósticas objetivas y reproducibles que eliminen los prejuicios y factores psicológicos personales ni existe una sintomatología patognomónica de alergia a alimentos. Un mismo alimento no siempre desencadena la misma sintomatología.

De una forma general se puede decir que en el diagnóstico de la alergia alimentaria se pasa por tres etapas:

- Establecimiento de la relación causa efecto entre el alimento sospechoso y los síntomas que desencadena;
- Pruebas cutáneas y determinación de la existencia de IgE específica a dicho alimento
- Confirmación, mediante prueba de provocación, de que efectivamente el paciente es alérgico a ese alimento.

3.6.1 Relación causa – efecto

A través de la historia clínica establecemos:

Anamnesis

En la historia clínica lo más importante es la relación próxima en el tiempo entre la ingestión del alimento y el inicio de la sintomatología. Los datos importantes se pueden dividir en tres grupos:

Referentes al cuadro clínico:

- Síntomas: Tiempo de aparición de los síntomas. Si aparecen antes de una hora tras la ingestión, es sugestiva de alergia a alimentos.
- Gravedad: Estado general, duración de los síntomas y necesidad de tratamiento.
- Frecuencia: Frecuencia y distribución en el tiempo.
- Tiempo transcurrido desde el último episodio. En la infancia la evolución es hacia la tolerancia.

Referentes al alimento:

- Identificación del alimento.
- Presentación del alimento. Crudo, elaborado, entero o sólo una parte (corteza, pulpa etc)
- Cantidad ingerida. Determinar umbral.
- Tolerancia previa y/o posterior.
- Reacciones cruzadas. Existencia de clínica anterior a alimentos taxonómicamente relacionados u otros con los que se ha establecido reactividad cruzada: pólenes y frutas, frutas y látex, etc. (Ver apartado sobre reactividad cruzada)
- Alimentos ocultos (aditivos, tóxicos, etc) o contaminantes (parásitos, hongos, etc).

Referentes al paciente:

- Edad actual y comienzos de los síntomas.
- Circunstancias acompañantes: Estado de salud, existencia de tratamiento farmacológico previo, relación con ejercicio físico, circunstancias ambientales y emocionales.
- Antecedentes personales y familiares de atopia.
- Factores de riesgo: exposición precoz a alérgenos alimentarios, sobrecarga de alimentos potencialmente antigénicos.

Manifestaciones clínicas

Síntomas cutáneos

Es la sintomatología más común en este tipo de alergia.

- Urticaria aguda: Puede ser desencadenada no solo por la ingestión sino por el contacto con el alimento.
- Angioedema.
- Síndrome de alergia oral (SAO): Prurito orofaríngeo, por lo general en alergia a frutas frescas.
- Dermatitis atópica: Común en lactantes y niños y las causa más frecuentes son la leche y los huevos.

Síntomas digestivos:

Vómitos y/o diarrea, distensión y dolor abdominal.

Síntomas respiratorios:

Rinitis aguda con hidrorrea, acompañada o no de conjuntivitis. La dificultad respiratoria por edema de glotis y/o broncoespasmo son infrecuentes y, cuando se presentan, suelen estar asociados a una afección grave multisistémica.

Anafilaxis:

No es rara en alergia a alimentos.

Deben tenerse en cuenta otros factores desencadenantes asociados al alimento con el ejercicio, la temperatura y el stress.

3.6.2. Pruebas diagnósticas

Pueden realizarse por métodos “in vivo” (pruebas cutáneas) y métodos “in vitro” (test de laboratorio)

Pruebas cutáneas

Para estas pruebas (prick test, prick-prick, intradérmica y/o parche) se deben usar los alimentos que más frecuentemente estén asociados a la clínica del enfermo pero siempre se debe tener presente que sirven para determinar la presencia de IgE específica pero, por sí solas, no confirman el diagnóstico

- **Prick test**

El resultado depende, en gran medida, del extracto comercial que se use. Para unos resultados óptimos hay que usar extractos de calidad; lo ideal sería poder tener extractos estandarizados biológicamente.

- **Prick-prick**

Se efectúa pinchando el alimento fresco que se va a probar e inmediatamente, la piel del paciente. Mientras no existan extractos comerciales estandarizados biológicamente, esta es la técnica recomendada por los mejores resultados hasta ahora obtenidos.

- **Intradérmica**

Es más sensible que el prick-test y que el prick-prick pero se usa poco por el riesgo que conlleva de inducir reacciones adversas y de dar falsos positivos por irritación.

- **Parche**

Casi siempre se usa para medir la inmunidad celular y es útil en dermatitis atópica con sensibilización tardía a alimentos.

Pruebas “in vitro” – Diagnostico de Laboratorio

Inmunoglobulina E Total -no específica

A principios del siglo XX 1921 en Praustniz y Kiistner detectaron que se podían transmitir de un paciente a otro las reacción de hipersensibilidad a base de inyectar suero del paciente afecto al sano. A partir de estos experimentos se detectó que pacientes atópicos tenían anticuerpos que mediaban en las reacciones de hipersensibilidad inmediata. A partir de aquí, se denominó reagina al elemento causal de la transferencia de sensibilidad

Tuvieron que pasar casi 40 años para que Ishizaka, en 1966, y Johansson, en 1968, demostraran la existencia de una nueva inmunoglobulina, desconocida hasta entonces y de base bioquímica muy parecida a la de IgG, IgA, IgM, e IgD conocidas hasta entonces. A esta nueva inmunoglobulina se la denominó lógicamente de clase IgE.

Se trata de un anticuerpo capaz de fijarse a la superficie del mastocito y basófilo, provocando la liberación de aminas vasoactivas (histamina) bajo la estimulación de un alérgeno específico.

Aunque los valores normales de IgE (Tabla 4) específica en adultos se consideran inferiores a 100 UI/ml, en los niños son significativamente distintas.

TABLA 4

IgE Total en suero	
Recien nacidos	: 0 - 1.5 UI/ml
Niños de 1 año	: 0 - 15 UI/ml
Niños de 1-5 años	: 0 - 60 UI/ml
Niños de 6-9 años	: 0 - 90 UI/ml
Niños de 10-15 años	: 0 - 200 UI/ml
Adultos	: 0 - 100 UI/ml

No obstante hay que considerar que podemos encontrarnos en la clínica diaria con valores de IgE específica por debajo de 100 UI/ml con estado de hipersensibilidad que se traduce con presencia de un resultado IgE específica a un alimento (RAST) positivo.

En conclusión un valor de IgE Total inferior a 100 UI/ml no descarta un estado alergia alimentaria del paciente.

Inmunoglobulina IgE específica

En el Laboratorio Clínico pueden utilizarse distintos métodos para detectar la IgE específica a un alimento.

IgE específica RAST

La técnica del RAST (*Radio-Allergo Sorbent Test*). Fué desarrollada en 1967, por Wide y cols. Se trata de un método RIA (inmunoradiométrico) . Existe un amplio panel de alimentos. El extracto alimentario está fijado a una fase sólida. En una primera fase se incubaba el suero del paciente que debe reaccionar con el inmunoabsorbente de la fase sólida. Tras una serie de lavados se incubaba la fase sólida con un conjugado anti IgE marcado con ¹²⁵ I. Se forma un inmunocomplejo final entre la IgE específica del paciente fijada en la primera fase de la reacción y el conjugado anti IgE marcado con ¹²⁵ I. Mediante un contador gamma se mide la actividad de ¹²⁵ I que será proporcional a la cantidad de IgE específica que contiene el suero del paciente frente al alimento fijado en la fase sólida.

IgE específica EIA, FEIA, CLA

Es un método ampliamente extendido y disponible en la mayoría de laboratorios que nos permite determinar la IgE específica que se fija a un disco o cápsula de celulosa impregnada del extracto alimentario que estamos analizando. Requiere una calibración mediante unos estándares de

curva de referencia de IgE específica. El resultado (Tabla 5) se mide en kU/l con un rango que va de 0,35 a 100 kU/l.

TABLA 5

IgE específica	
Clase 0	: Inferior a 0.35 kU/l
Clase 1	: 0,35 - 0,70 kU/l
Clase 2	: 0,70 - 3,50 kU/l
Clase 3	: 3,50 - 17,5 kU/l
Clase 4	: 17,5 - 50 kU/l
Clase 5	: 50 - 100 kU/l
Clase 6	: Superior 100 kU/l

Hay varias opciones metodológicas en formato de kits comerciales con paneles de alimentos codificados y estandarizados (Tabla 6) que utilizan distintos marcadores: EIA (inmunoenzimáticos), CLA (quimioluminiscencia), FEIA (inmunofluorimétricos)

TABLA 6

COD	IgE específica (alimento)	COD	IgE específica (alimento)	COD	IgE específica (alimento)	COD	IgE específica (alimento)
f1	Clara de huevo	f80	Bogavante (<i>Homarus gammarus</i>)	f237	Albaricoque (<i>Prunus armeniaca</i>)	Rf298	Tragacanto (<i>Astragalus</i> spp.)
f2	Leche (vaca)	f81	Queso tipo cheddar	f242	Cereza (<i>Prunus avium</i>)	f299	Castaña (<i>Castanea sativa</i>)
f3	Pescado, bacalao (<i>Gadus morhua</i>)	f82	Queso azul	f244	Pepino (<i>Cucumis sativus</i>)	Rf300	Leche de cabra
f4	Trigo (<i>Triticum</i>)	f83	Carne de pollo (<i>Gallus</i>)	f245	Huevo (yema y clara)	Rf301	Caqui (<i>Diospyros</i>)

NUEVAS PERSPECTIVAS PARA LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

	aestivum)		spp.)				kaki)
f5	Centeno (<i>Secale cereale</i>)	f84	Kiwi (<i>Actinidia chinensis</i>)	Rf246	Guar (<i>Cyamopsis tetragonolobus</i>)	Rf302	Mandarina (clementina) (<i>Citrus reticulata</i>)
f6	Cebada (<i>Hordeum vulgare</i>)	f85	Apio (<i>Apium graveolens</i>)	Rf247	Miel	Rf303	Fletán (<i>Hippoglossus hippoglossus</i>)
f7	Avena (<i>Avena sativa</i>)	f86	Perejil (<i>Petroselinum crispum</i>)	Rf253	Piñón (<i>Pinus edulis</i>)	Rf304	Langosta (<i>Palinurus</i> spp.)
f8	Maíz (<i>Zea mays</i>)	f87	Melon (<i>Cucumis melo</i>)	f254	Solla (<i>Pleuronectes platessa</i>)	Rf305	Alholva (<i>Trigonella foenum-graecum</i>)
f9	Arroz (<i>Oryza sativa</i>)	f88	Carnero (<i>Ovis</i> spp.)	f255	Ciruella (<i>Prunus domestica</i>)	Rf306	Lima (<i>Citrus aurantifolia</i>)
f10	Semillas de sésamo o ajonjolí (<i>Sesamum indicum</i>)	f89	Mostaza (<i>Brassica/Sinapis</i> spp.)	f256	Nogal (<i>Juglans</i> spp.)	Rf307	Merluza (<i>Merluccius merluccius</i>)
f11	Trigo sarraceno (<i>Fagopyrum esculentum</i>)	f90	Malta	Rf258	Calamar (<i>Loligo</i> spp.)	Rf308	Sardina (<i>Sardina pilchardus</i>)
f12	Guisante (<i>Pisum sativum</i>)	f91	Mango (<i>Mangifera indica</i>)	f259	Uva (<i>Vitis vinifera</i>)	Rf309	Garbanzo (<i>Cicer arietinum</i>)
f13	Cacahuete (<i>Arachis hypogaea</i>)	f92	Plátano (<i>Musa</i> spp.)	f260	Brécol (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>)	Rf310	Almorta (<i>Lathyrus sativus</i>)
f14	Soja (<i>Glycine max</i>)	f93	Cacao (<i>Theobroma cacao</i>)	Rf261	Espárrago (<i>Asparagus officinalis</i>)	Rf311	Gallo del norte (<i>Lepidorhombus whiffiagonis</i>)
f15	Judía blanca (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	f94	Pera (<i>Pyrus communis</i>)	Rf262	Berenjena (<i>Solanum melongena</i>)	Rf312	Pez espada (<i>Xiphias gladius</i>)
f17	Avellana (<i>Corylus avellana</i>)	f95	Melocotón (<i>Prunus persica</i>)	Rf263	Pimienta verde (semilla sin madurar) (<i>Piper nigrum</i>)	Rf313	Boquerón (<i>Engraulis encrasicolus</i>)
f18	Castaña de Brasil (<i>Bertholletia excelsa</i>)	f96	Aguacate (<i>Persea americana</i>)	Rf264	Anguila (<i>Anguilla anguilla</i>)	Rf314	Caracol (<i>Helix aspersa</i>)
f20	Almendra (<i>Amygdalus communis</i>)	Rf97	Ñame	Rf265	Alcaravea (<i>Carum carvi</i>)	Rf315	Judía verde (<i>Phaseolus vulgaris</i>)
f23	Buey de mar (<i>Cancer pagurus</i>)	f201	Pecan (<i>Carya illinoensis</i>)	Rf266	Nuez moscada (<i>Myristica fragrans</i>)	Rf316	Nabo (<i>Brassica rapa</i>)
f24	Camarón boreal (<i>Pandalus borealis</i>)	f202	Anacardo (<i>Anacardium occidentale</i>)	Rf267	Cardamomo (<i>Elettaria cardamomum</i>)	Rf317	Coriandro (<i>Coriandrum sativum</i>)
f25	Tomate (<i>Lycopersicon lycopersicum</i>)	f203	Pistacho (<i>Pistacia vera</i>)	Rf268	Clavo (<i>Syzygium aromaticum</i>)	Rf318	Árbol del pan (<i>Artocarpus heterophyllus</i>)

NUEVAS PERSPECTIVAS PARA LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

f26	Cerdo (<i>Sus</i> spp.)	f204	Trucha (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) (<i>Salmo gairdneri</i>)	Rf269	Albahaca (<i>Ocimum basilicum</i>)	Rf319	Remolacha (<i>Beta vulgaris</i>)
f27	Buey (<i>Bos</i> spp.)	f205	Arenque (<i>Clupea harengus</i>)	Rf270	Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>)	Rf320	Cangrejo de río (<i>Astacus astacus</i>)
f31	Zanahoria (<i>Daucus carota</i>)	Rf206	Caballa (<i>Scomber scombrus</i>)	Rf271	Anís (<i>Pimpinella anisum</i>)	Rf321	Carne de equino
f33	Naranja (<i>Citrus sinensis</i>)	f207	Almeja (<i>Ruditapes</i> spp.)	Rf272	Estragón (<i>Artemisia dracunculus</i>)	Rf322	Grosella roja (<i>Ribes sylvestre</i>)
f35	Patata (<i>Solanum tuberosum</i>)	f208	Limón (<i>Citrus limon</i>)	Rf273	Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>)	Rf323	Conalbúmina
f36	Coco (<i>Cocos nucifera</i>)	f209	Pomelo (<i>Citrus paradisis</i>)	Rf274	Mejorana (<i>Origanum majorana</i>)	Rf324	Lúpulo (amento frutal) (<i>Humulus lupulus</i>)
f37	Mejillón (<i>Mytilus edulis</i>)	f210	Piña (<i>Ananas comosus</i>)	Rf275	Levístico (<i>Levisticum officinale</i>)	Rf325	Leche de oveja
f40	Atún claro (<i>Thunnus albacares</i>)	Rf211	Mora de zarza (<i>Rubus fruticosus</i>)	Rf276	Hinojo fresco (<i>Foeniculum vulgare</i>)	Rf326	Suero de leche de oveja
f41	Salmón (<i>Salmo salar</i>)	Rf212	Champiñón (<i>Agaricus hortensis</i>)	Rf277	Eneldo (<i>Anethum graveolens</i>)	Rf328	Higo (<i>Ficus carica</i>)
f44	Fresa (<i>Fragaria vesca</i>)	f213	Carne de conejo (<i>Oryctolagus</i> spp.)	Rf278	Laurel, hojas (<i>Laurus nobilis</i>)	Rf329	Sandía (<i>Citrullus lanatus</i>)
f45	Levadura de cerveza (<i>Saccaromyces cerevisiae</i>)	f214	Espinaca (<i>Spinacia oleracea</i>)	Rf279	Chile frutescens (<i>Capsicum frutescens</i>)	Rf330	Escaramujo (<i>Rosa</i> spp.)
f47	Ajo (<i>Allium sativum</i>)	f215	Lechuga (<i>Lactuca sativa</i>)	f280	Pimienta negra (<i>Piper nigrum</i>)	Rf331	Azafrán (<i>Crocus sativus</i>)
f48	Cebolla (<i>Allium cepa</i>)	f216	Repollo (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	Rf281	Curry	Rf332	Menta piperita (<i>Mentha piperita</i>)
f49	Manzana (<i>Malus sylvestris</i>)	Rf217	Coles de Bruselas (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gemmifera</i>)	Rf282	Nuez moscada (<i>Myristica fragrans</i>)	Rf333	Linaza (<i>Linum usitatissimum</i>)
f50	Estomino (<i>Scomber japonicus</i>)	f218	Guindilla, pimiento (<i>Capsicum annuum</i>)	Rf283	Orégano (<i>Origanum vulgare</i>)	Rf334	Lactoferrina bovina
f51	Brotes de bambú (<i>Phyllostachys pubescens</i>)	Rf219	Semillas de hinojo (<i>Foeniculum vulgare</i>)	f284	Carne de pavo (<i>Meleagris gallopavo</i>)	Rf335	Semilla de altramuz (<i>Lupinus albus</i>)
f54	Batata (<i>Ipomea batatas</i>)	Rf220	Canela (<i>Cinnamomum</i> spp.)	Rf285	Carne de alce	Rf336	Azulaifa (<i>Ziziphus jujuba</i>)
f55	Mijo (<i>Panicum milliaceum</i>)	Rf221	Café (<i>Coffea</i> spp.)	Rf286	Leche de yegua	Rf337	Lenguado (<i>Solea solea</i>)
f56	Panizo (<i>Setaria italica</i>)	Rf222	Té (<i>Camellia sinensis</i>)	Rf287	Judía pinta (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	f338	Vieira (<i>Pecten</i> spp.)
f57	Pie de gallina (<i>Echinochloa crus-</i>	Rf224	Semillas de adormidera (<i>Papaver</i>	Rf288	Arándano (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	Rf339	Pimienta de Jamaica (<i>Pimenta</i>

NUEVAS PERSPECTIVAS PARA LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

	<i>galli</i>)		<i>somniferum</i>)				<i>dioica</i>)
f58	Pota japonesa (<i>Todarodes pacificus</i>)	f225	Calabacín (<i>Cucurbita pepo</i>)	Rf289	Dátil (<i>Phoenix dactylifera</i>)	Rf340	Extracto de cochinilla (rojo carmín) (<i>Dactylopius coccus</i>)
f59	Pulpo (<i>Octopus vulgaris</i>)	Rf226	Semillas de calabacín (<i>Cucurbita pepo</i>)	f290	Ostra (<i>Ostrea edulis</i>)	Rf341	Arándano (<i>Vaccinium oxycoccus</i>)
f60	Jurel japonés (<i>Trachurus japonicus</i>)	Rf227	Semillas de remolacha (<i>Beta vulgaris</i>)	Rf291	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>)	Rf342	Aceituna negra o verde (<i>Olea europaea</i>)
f61	Sardina rusa (<i>Sardinops melanosticta</i>)	f231	Leche hervida	Rf292	Guayaba (<i>Psidium guajava</i>)	Rf343	Frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>)
f75	Yema de huevo	f232	Ovoalbúmina	Rf293	Papaya (<i>Carica papaya</i>)	Rf344	Salvia (<i>Salvia officinalis</i>)
f76	Lactoalbúmina a	f233	Ovomucoide	Rf294	Fruto de la pasión (<i>Passiflora edulis</i>)	Rf345	Nuez de macadamia
f77	Lactoglobulina b	Rf234	Vainilla (<i>Vanilla planifolia</i>)	Rf295	Carambolo (<i>Averrhoa carambola</i>)	Rf346	Oreja de mar (<i>Haliotis</i> spp.)
f78	Caseína	f235	Lentejas (<i>Lens esculenta</i>)	Rf296	Algarrobo (<i>Ceratonia siliqua</i>)	Rf347	Quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i>)
f79	Gluten	Rf236	Suero de leche	Rf297	Goma arábica (<i>Acacia</i> spp.)	Rf348	Lichi (<i>Litchi chinensis</i>)

Todos ellos son susceptibles de automatización lo que simplifica mucho el estudio en formato de paneles de alimentos. En ocasiones ocurre que los resultados de Laboratorio no correlacionan con la clínica alérgica del paciente, quizás por falta de especificidad de la técnica. En estos casos el diagnostico clínico prevalece ante el del Laboratorio

IgE específica MAST

Las siglas corresponden a (*Multiple Allergo Sorbent Test System*). Permite analizar paneles relacionados de alimentos codificados (Tabla 7) dentro de un grupo determinado de alimentos relacionados. Mediante este sistema podemos también utilizar la metodologías anteriormente señaladas (RAST, EIA, CLA, FEIA)

TABLA 7

Código	IgE específica MAST
fx1	f13, f17, f18, f20, f36 (cacahuete, avellana, castaña de Brasil, almendra, coco)
fx3	f4, f7, f8, f10, f11 (trigo, avena, maíz, ajonjolí, trigo sarraceno)
fx5E	f1, f2, f3, f4, f13, f14 (clara de huevo, leche, pescado, trigo, cacahuete, soja)
fx7	f25, f45, f47, f48, f85 (tomate, levadura de cerveza, ajo, cebolla, apio)
fx8	f17, f18, f33, f49, f93 (avellana, castaña de Brasil, naranja, manzana, cacao)
fx9	f20, f84, f87, f92, f259 (almendra, kiwi, melón, plátano, uva)
fx10	f26, f27, f75, f83, f284 (cerdo, buey, yema de huevo, carne de pollo y de pavo)
Rfx11	f8, f12, f15, f31, f260 (maíz, guisante, judía blanca, zanahoria, brécol)
Rfx12	f5, f9, f35, Rf212, f225 (centeno, arroz, patata, champiñón, calabín)
fx13	f12, f15, f31, f35 (guisante, judía blanca, zanahoria, patata)
fx14	f25, f214, f216, f218 (tomate, espinaca, repollo, pimiento)
fx15	f33, f49, f92, f95 (naranja, manzana, plátano, melocotón)
fx16	f44, f94, f208, f210 (fresa, pera, limón, piña)
Rfx17	f49, f92, f94, f95 (manzana, plátano, pera, melocotón)
fx18	f12, f13, f14 (guisante, cacahuete, soja)
Rfx19	f31, f35, f214, f244 (zanahoria, patata, espinaca, pepino)
fx2	f3, f24, f37, f40, f41 (pescado, gamba, mejillón, atún, salmón)
fx20	f4, f5, f6, f9 (trigo, centeno, cebada, arroz)
Rfx21	f84, f87, f92, f95, f210 (kiwi, melón, plátano, melocotón, piña)
Rfx22	f201, f202, f203, f256 (pecan, anacardo, pistacho, nuez)
fx23	f26, f27, f83, f284 (cerdo, buey, carne de pollo y de pavo)

fx24	f17, f24, f84, f92 (avellana, gamba, kiwi, plátano)
fx25	f10, f45, f47, f85 (ajonjolí, levadura, ajo, apio)
fx70	Rf272, Rf273, Rf274, Rf275 (estragón, tomillo, mejorana, levístico)
fx71	Rf265, Rf266, Rf267, Rf268 (alcaravea, macis, cardamomo, clavo)
fx72	Rf269, Rf219, Rf270, Rf271 (albahaca, semillas de hinojo, jengibre, anís)
fx73	f26, f27, f83 (cerdo, buey, carne de pollo)
fx74	f3, f205, f254, Rf206 (bacalao, arenque, caballa, solla)

Inmunoglobulina IgG / IgG₄ específica

Se presenta en el ámbito de las reacciones adversas a los alimentos como el llamado (Test alimentario de IgG's) o (Test de Hipersensibilidad alimentaria IgG).

Su presencia esta un tanto controvertida en cuanto a significación clínica de la misma. Algunos autores señalan que la presencia de IgG /IgG₄ específica supone un estado de hipersensibilidad alimenticia sin relación al concepto de intolerancia alimenticia que se desarrollará en un capítulo posterior.

Existen multitud de Kits comerciales en formato generalmente de IgG y excepcionalmente IgG₄ que permiten analizar paneles de hasta 200 alimentos (en ningún caso puede abordarse mediante este sistema la intolerancia a los aditivos alimenticios)

Hay algunas publicaciones que indican que la IgG₄ específica puede ayudarnos en diagnóstico de la alergia alimentaria no mediada por IgE específica. En este caso, frente a un determinado alimeto el RAST sería negativo y la IgG₄ específica podría ser positiva maracado una situación de hipersensibilidad tipo IgG. Es por ello que algunos autores consideran la

positividad de la IgG puede indicar una hipersensibilidad clínica o bien un estímulo antigénico crónico en pacientes susceptibles.

En conclusión los pacientes positivos en IgG específica a un alimento tendremos que encuadrarlos en el grupo de las reacciones mediadas por el sistema inmunológico que nos son de tipo IgE según la clasificación propuesta por el Subcomité de Reacciones Adversas a Alimentos de la Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica expuesta en el capítulo 2

Pruebas de provocación

La provocación es el único test que confirma el diagnóstico de reacción alérgica a alimentos.

Está indicada:

- Antes de instaurar una dieta de exclusión prolongada.
- Para valorar la aparición de tolerancia a lo largo de la evolución.

La provocación con alimentos está contraindicada:

- En todas aquellas patologías que contraindiquen el tratamiento con adrenalina,
- En pacientes que requieran tratamiento con bloqueantes beta-adrenérgicos,
- En el embarazo,
- En caso de reacciones anafilácticas con alimentos claramente responsables clínicamente.

Provocación oral

Se puede realizar de forma:

- 1- Abierta (POA), se realiza con el alimento preparado en la misma forma que lo estaba cuando se produjo la reacción. Si es negativa excluye una alergia al alimento implicado.
- 2- A simple ciego controlada con placebo (POSCP), se realiza con el alimento enmascarado para modificar su consistencia, olor y sabor.
- 3- A doble ciego controlada con placebo (PODCP), es la provocación indicada y la única aceptada en investigación.

Dieta de eliminación

El primer paso a seguir en la confirmación diagnóstica es evitar el alimento sospechoso y si el diagnóstico es correcto desaparecerán los síntomas.

Posteriormente puede hacerse o no una prueba de reintroducción del alimento para ver si reaparecen los síntomas.

3.7. Tratamiento

Como ocurre con toda patología, antes de iniciar el tratamiento de una alergia alimentaria conviene haber hecho un diagnóstico correcto y seguro, siguiendo las pautas antes descritas. Aún así, en muchos casos es imposible establecer un diagnóstico de certeza, bien porque haya polisensibilizaciones o bien porque existan factores que modifiquen el umbral de tolerancia del enfermo de forma que falseen las pruebas de provocación.

En el caso de cualquier alergia, y por tanto también en la alergia alimentaria, el tratamiento se apoya sobre un trípode:

- Tratamiento etiológico
- Tratamiento sintomático
- Tratamiento específico

3.7.1. Tratamiento etiológico

Consiste en evitar el agente causal. Es evidente que sin la presencia del alérgeno desencadenante no se produce la reacción alérgica.

Una vez identificado dicho alérgeno, hay que instruir al paciente sobre la dieta que debe realizar, informarle de en que platos se encuentra mas frecuentemente en nuestra cultura el antígeno causal, explicarle en que tipo de salsas o guarniciones puede encontrarse oculto dicho antígeno (manzana, frutos secos, etc.,)

Hay que explicarle también que determinadas infecciones intestinales o parasitosis pueden alterar la permeabilidad de la mucosa intestinal y disminuir su umbral de tolerancia frente al alimento, por tanto debe extremar las precauciones cuando estas situaciones se produzcan.

Debe explicarsele también que a veces es imposible evitar totalmente el antígeno y por tanto debe tener siempre a mano la medicación adecuada para hacer frente a la reacción alérgica.

3.7.2. Tratamiento sintomático

Si la reacción no es grave, el fármaco de elección son los antihistamínicos por vía parenteral seguidos de un tratamiento de varios días con antihistamínicos orales.

Si la reacción es más importante, a los antihistamínicos parenterales se añaden corticoides parenterales y/u orales.

Cuando la sintomatología compromete vías aéreas y vasculares, pudiendo ocasionar edema de glotis o shock anafiláctico se aconseja la adrenalina subcutánea 0,5 cc. a concentración 1:1.000, pudiéndose repetir a los 20-30 minutos si la sintomatología no cede. Hoy en día aconsejamos a los pacientes con alto riesgo de presentar reacciones anafilácticas graves que lleven siempre consigo jeringuillas precargadas y autoinyectables de adrenalina, para poderla utilizar de forma inmediata. También aconsejamos, aunque las reacciones no hayan sido graves, que lleven antihistaminicos orales y si es necesario también corticoides orales.

3.7.3. Tratamiento específico

Como ya se ha dicho, el mejor tratamiento específico de una alergia alimentaria es evitar el alimento desencadenante, pero cuando no puede hacerse un tratamiento etiológico correcto disponemos de dos tipos de tratamiento específico

3.7.3.1 Las cromonas

El cromoglicato disódico inhibe la degranulación del mastocito y en consecuencia la liberación de sustancias vasoactivas y además puede usarse también por vía oral sin riesgo y sin efecto secundario alguno.

Su eficacia es discutida; cuestionada por algunos autores y avalada por otros.

3.7.3.2 La inmunoterapia específica

Su eficacia en la alergia alimentaria está cuestionada y debe reservarse para casos en que el alimento sea imprescindible o tan abundante en el ambiente geográfico del enfermo que sea prácticamente imposible evitarlo.

Como en cualquiera de sus indicaciones, el tratamiento inmunoterápico debe ser siempre indicado y controlado por el Alergólogo.

4. INTOLERANCIA ALIMENTARIA

4.1 Definición

Las academias nombradas anteriormente (americana y europea) definen la intolerancia alimentaria como aquella respuesta anómala del organismo frente a cualquier alimento o aditivo alimentario, en la que no participa el sistema inmunológico. Etiológicamente, presenta una frecuencia entre 5 y 10 veces superior a la alergia. En este caso, no existe periodo de latencia, de forma que tras la exposición, se produce una reacción microtoxicidad de carácter individual cuyas dianas son los linfocitos, granulocitos y plaquetas de la sangre.

4.2 Sintomatología

La sintomatología asociada es de carácter más leve que el proceso alérgico comentado en capítulos anteriores (Tabla 8) aunque de duración crónica, y agrupa las siguientes manifestaciones: trastornos gastrointestinales, como dolor y distensión abdominal, vómitos y diarrea, dermatitis y eczemas, migraña, fatiga crónica y alteraciones reumáticas, así como el fracaso de la dieta hipocalórica en el tratamiento del sobrepeso.

TABLA 8

ALERGIA	INTOLERANCIA
- Síntomas de tipo agudo. - En ocasiones grave. - Aparece al poco tiempo del contacto (fácil de asociar con la alimentación). - Causada por anticuerpos tipo IgE o IgG.	- Síntomas de tipo crónico. - Los síntomas suelen ser leves. - Puede aparecer hasta 72 horas después. - Causada por citotoxicidad celular (neutrófilos, lífocitos y plaquetas)

4.3 Etiología

Las causas de la intolerancia pueden ser de tres tipos:

4.3.1 Tipo enzimático

Son reacciones de intolerancia producidas por déficits enzimáticos del propio individuo. Es el caso de la intolerancia a la lactosa por problema de síntesis individual de enzima lactasa (enzima que digiere la lactosa, que es el azúcar de la leche).

La lactosa es el azúcar que se encuentra en la leche. La lactasa, que está presente en el intestino delgado, descompone la lactosa en azúcares más simples (glucosa y galactosa), para que puedan ser absorbidos por el organismo. Cuando la actividad de la enzima es demasiado baja, la lactosa no se puede digerir, y pasa al intestino grueso, donde es fermentada por las bacterias de la flora intestinal. Esto puede provocar síntomas como flatulencia, dolor y diarrea.

La mayoría de personas producen suficiente lactasa a lo largo de su vida, la deficiencia de lactasa es un fenómeno común en algunas razas de color y algunas personas de Oriente Medio, India y zonas de África, así como en sus descendientes. En realidad, aproximadamente un 70 por ciento de la población adulta del mundo no produce suficiente lactasa, y consecuentemente tiene algún grado de intolerancia a la lactosa. En Europa, la deficiencia de lactasa se da en cerca de un cinco por ciento de la población blanca, y en una proporción mucho mayor (entre el 50 y el 80 por ciento) en grupos étnicos.

La cantidad de leche y productos lácteos que puede producir síntomas de intolerancia varía mucho. Algunas personas que tienen una baja actividad intestinal de lactasa pueden tomarse un vaso de leche sin experimentar ninguna molestia. Igualmente, los quesos duros, debido a su contenido bajo en lactosa, y los productos de leche fermentada, como el yogur, normalmente son bien tolerados. Esto podría explicar por qué el

consumo de productos lácteos cultivados y los yogures está tan extendido en zonas del mundo donde es común la deficiencia de lactasa. Además, se puede mejorar la tolerancia en personas sensibles, si se consumen alimentos que contienen lactosa como parte de las comidas, y se reduce la cantidad de alimentos ricos en lactosa que se ingieren de una sola vez.

4.3.2 Tipo farmacológico

Son debidas a agentes farmacológicos activos, presentes en pequeñas dosis en los alimentos.

Hay que señalar que algunas personas suelen comer ciertas cantidades de alimentos que contienen sustancias químicas como histamina, serotonina, feniletilamina, tiramina y dopamina, que son aminas vasoactivas que actúan sobre los vasos sanguíneos y pueden provocar constricción o vasodilatación..

Entre los alimentos que contienen histamina (Tabla 9) o bien tienen la capacidad de liberar histamina (Tabla 10) . La serotonina se encuentra, por ejemplo, en el plátano maduro; la feniletinamina en el chocolate; la tiramina en el queso, el hígado, el arenque, los embutidos, la carne, el pescado ahumado, la cerveza, el café, los plátanos maduros, el maní y el vino tinto; la dopamina en las habas; mientras que la octopamina está presente en algunos cítricos.

TABLA 9

ALIMENTOS RICOS EN HISTAMINA	
Tomate	Salchichón y otros embutidos
Carne de buey	Quesos añejos
Espinacas	Bebidas fermentadas (vino, cerveza)
Pescado azul (atún, salmón, sardinas)	Atún y anchoas en conserva
Carne e hígado de cerdo	Caviar
Alimentos ricos en almidón	Féculas fermentadas

TABLA 10

ALIMENTOS LIBERADORES DE HISTAMINA	
Leguminosas,	Papaya
Cereales	Piña
Pescados y mariscos	Fresas
Cerdo	Frutos secos (Nueces, Cacahuets)
Clara de huevo	Tomate
Chocolate	

Otros alimentos contienen aminas vasoactivas: Tiramina, fenil etilamina, triptamina (TABLA 11 y 12) que pueden inducir efectos similares a los de la histamina.

TABLA 11

ALIMENTOS QUE CONTIENEN TIRAMINA	
Quesos fermentados	Bebidas alcoholicas fermentadas
Embutidos curados	Legumbres
Extractos de carne	Chocolate
Conservas de pescado	Aguacates y plátanos maduros
Hígado y patés	Habas (elevado contenido en dopamina)

TABLA 12

ALIMENTOS RICOS EN FENILETILAMINA	
Chocolates	Vinos
Quesos	

En los enfermos con alergia o intolerancia al ácido acetilsalicílico A.A.S. o a los antiinflamatorios no esteroideos A.I.N.E''s hay que tener muy en cuenta que existen alimentos que contienen salicilatos de forma natural

(Tabla 13) y por tanto pueden producirse reacciones de intolerancia por el salicilato que contiene.

TABLA 13

ALIMENTOS QUE CONTIENEN SALICILATOS	
<i>Frutas naturales</i>	<i>Bebidas</i>
Platano	Vino
Uva	Cerveza
Melocotón	Sidra
Manzana	Té
Albaricoque	
Cereza	<i>Vegetales</i>
Pomelo	
Melón	Pepino
Limón	Pimiento
Naranja	Tomate
Ciruela	Guisantes
Mora	
Frambuesa	<i>Otros</i>
<i>Frutos secos</i>	Vinagre
	Salsas embotelladas
Almendra	
Cacahuete	

4.3.3 Tipo no identificado

Incluyen las reacciones frente a aditivos alimentarios y al multitud de alimentos capaces de producir estado de intolerancia en un paciente determinado.

Debido al desarrollo tecnológico y a cambios en los hábitos dietéticos, la población ha incrementado su exposición a una gran variedad de aditivos y contaminantes, particularmente los alimentos procesados, que han creado un microambiente en el intestino que favorece el desarrollo de las reacciones adversas.

Se conoce como aditivo toda sustancia que se añade intencionalmente a los alimentos o bebidas, que no cambia su valor nutricional, pero sí modifica sus caracteres, técnicas de elaboración o conservación, o se utiliza para mejorar su adaptación al uso a que son destinados. En la (Tabla 14) se muestran los aditivos colorantes y conservantes mas frecuentes en nuestro ámbito

TABLA 14

CONSERVANTES	COLORANTES
<i>Aspartamo (E951)</i>	<i>Tartracina (E102)</i>
<i>Ácido benzoico (E210)</i>	<i>Amarillo quinoleina (E104)</i>
<i>Glutamato monosódico (E621)</i>	<i>Rojo Brillante (E124)</i>
<i>Polisorbato80 (E433)</i>	<i>Amaranto (E123)</i>
<i>Nitrato potásico (E252)</i>	<i>Eritrosina (E127)</i>
<i>Nitrito potásico (E249)</i>	<i>Azul patente (E131)</i>
<i>Sacarina (E954)</i>	<i>Carmín índigo (E132)</i>
<i>Ácido Sórbico (E200)</i>	<i>Verde S (E142)</i>
<i>Metabisulfito sódico (E223)</i>	<i>Amarillo ocazo FCF (E110)</i>
<i>Sulfito Sódico (E221)</i>	<i>Negro brillante (BN) (E151)</i>

Si una sustancia es añadida a un alimento con un propósito específico, es considerada un aditivo directo. Por ejemplo, el dulcificante aspartame, usado en bebidas, pudines, yogurt, goma de mascar y otros alimentos, se reconoce como aditivo directo. Muchos aditivos directos son identificados en la etiqueta de ingredientes de los alimentos.

Los aditivos indirectos de alimentos son aquellos que se convierten en parte del alimento mismo, aunque en cantidades insignificantes, lo cual puede suceder durante la manipulación, empaque o almacenamiento. Por ejemplo, diminutas cantidades de sustancias de los empaques pueden llegar a mezclarse con los alimentos durante el almacenamiento. En los EE. UU. los fabricantes y empaques de alimentos tienen que demostrar a la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) que todos los materiales que hagan contacto con los alimentos sean seguros, antes de permitírseles usarlos de esa manera.

Entre los conservantes se citan los cloruros, nitratos y nitritos, que están presentes en los embutidos, las salchichas y los chorizos, y llegan a provocar metahemoglobinemia, cefaleas, rubor, vértigo. Existen también los sulfitos, el ácido acético, el ácido benzoico y los benzoatos, empleados en el yogurt, los vinos, las bebidas y los zumos de frutas.

En el grupo de los antioxidantes y sinérgicos están los ácidos lácticos y cítrico, butilhidroxianisol (E 320), butilhidroxitolueno (E 321), usados en la margarina, los aceites de semillas, las conservas vegetales, y se asocian con la presencia del asma, edemas alérgicos, rinitis y urticaria.

Los colorantes se hallan en su forma natural o sintéticos. Se ha asociado, por ejemplo, la tartrazina con cuadros de asma y urticaria crónica. Otros pueden dar lugar a alteraciones de la membrana neuronal y liberación de neurotransmisores, y desencadenar hiperactividad, trastornos de la conducta, síndrome de tensión, fatiga, entre otros, aunque algunas revisiones de la Teoría de Feingol prueban que solo algunos niños se benefician con un tratamiento dietético en ese sentido. Algunos de los más

usados son la tartrazina (E 102), el amarillo naranja (E110), el amaranto (E123) y el rojo cochinilla. Este último es un colorante natural rojo que se obtiene a partir de las hembras del artrópodo *Dactilopius coccus costa* (cochinilla), que parasita varias especies de cactus.

Como potenciador del sabor se usa el glutamato monosódico (E 621), que es un neurotransmisor cuya acción produce un incremento de la acetilcolina en la sinapsis. Se encuentra en sopas, mariscos, aceitunas, mostaza, salsas, condimentos preparados y conservas de vegetales. Se usa mucho en comidas orientales, por lo que es el responsable del síndrome del restaurante chino. A los 5 ó 10 minutos de su ingestión aparece eritema generalizado, cefalea, parestesias, sudoración, prurito generalizado, sensación de mareo, palpitaciones, sensación de quemazón a nivel del tórax que se extiende al cuello y abdomen, así como la opresión torácica.¹⁰ A este grupo pertenece también el ácido fumárico, empleado para bebidas en polvo, rellenos para pasteles y gelatina, así como la proteína vegetal hidrolizada muy usada en salchichas y sopas instantáneas.

Los llamados edulcorantes artificiales son los ciclamatos, la sacarina, el manitol y el sirope de maíz.

Los emulgentes, espesantes, estabilizantes, antiaglutinantes, humectantes y gelificantes empleados son la caseína, la lecitina, la goma arábiga, las pectinas, la celulosa y el agar agar.

4.4. Diagnóstico

De la misma forma que planteábamos en el caso de la alergia alimentaria existen dos estrategias diagnosticas para la intolerancia alimentaria

- Pruebas “in vivo”
- Diagnóstico de Laboratorio - Pruebas “in vitro”

4.4.1 Pruebas “in vivo”

Se basan en establecer dietas personalizadas a partir de la eliminación individualizada de un alimento sospechoso de inducir intolerancia alimentaria comprobando la total desaparición de la sintomatología. Posteriormente se comprueba la reacción del paciente en la reintroducción del mismo

Dieta de eliminación

La confirmación diagnóstica es evitar el alimento sospechoso y si el diagnóstico es correcto desaparecerán los síntomas de Intolerancia alimentaria

Dieta de provocación

Tras el periodo de eliminación y comprobada la desaparición de los síntomas se incorpora de nuevo el alimento intolerante para evaluar un posible reactivación de la reacción de intolerancia

Este método se realiza de distintas formas:

Simple ciego controlada con placebo (POSCP), se realiza con el alimento enmascarado para modificar su consistencia, olor y sabor

Doble ciego controlada con placebo (PODCP), es el método recomendado y el de mayor reseñas bibliográficas sobre este tema.

4.4.2. Diagnostico de Laboratorio

El diagnóstico de Laboratorio se basa en el Test de Citotoxicidad (Test ALCAT) que dispone de un panel de 100 alimentos (Tabla 15) 20 aditivos (conservantes y colorantes). (Tabla 16).

TABLA 15

VERDURAS Y HORTALIZAS	PESCADOS	CARNES	FRUTAS	PRODUCTOS LÁCTEOS Y EQUIVALENTES
Akachiote	Atún	Bov	Agua de	Clara de huevo
Apio	Bacalao	Carro	Alfalfa	Leche de vaca
Batata	Fleto	Conejo	Carota	Leche de cabra
Berenjena	Lenguado	Carnero	Cinela	Montañita
Bercof	Morongo	Pavo	Coco	Queso
Cebollín	Rapa	Pollo	Fresa	Yema de huevo
Cebolla	Salmon	Tomate	Khi	
Champón	Sardina		Limón	
Cilantro	Trucha		Morongo	
Esparago		LEGUMINOSAS	Molotón	DIVERSOS
Esplacas		Guisante		Acetone
Gubante	CEREALES Y GRANOS	Judía pinta		Ajo
Judía verde	Aroz	Lenteja		Azúcar de caña
Lechuga	Avena	Morcote		Azúcar de remolacha
Papa	Cebada	Almendra		Cacao
Papito	Castaño	Almendra/Gamba		Café
Pimiento	Milza	Cangrejo	HERBAS Y ESPECIAS	Canela
Puerro	Milza	Lengua	Chile	Ginseng
Rapito	Milza	Mojón	Morongo	Levadura de cerveza
Tomate	Milza	Oreja	Perejil	Levadura de pan
Zanahoria	Trigo	FRUTOS SECOS	Pimiento	Miel
		Almendras	Sésamo	Hueso de coque
		Avellanas	Soja	
		Nuez	Té	

TABLA 16

CONSERVANTES	COLORANTES
Aspartamo (E951)	Tartracina (E102)
Ácido benzoico (E210)	Amarillo quinoleina (E104)
Glutamato monosódico (E621)	Rojo Brillante (E124)
Polisorbato 80 (E433)	Amaranto (E123)
Nitrato potásico (E252)	Eritrosina (E127)
Nitrito potásico (E249)	Azul patente (E131)
Sacarina (E954)	Carmín índigo (E132)
Ácido Sórbito (E200)	Verde S (E142)
Metabisulfito sódico (E223)	Amarillo ocaso FCF (E110)
Sulfito Sódico (E221)	Negro brillante (BN) (E151)

4.4.2.1 El Test Citotóxico

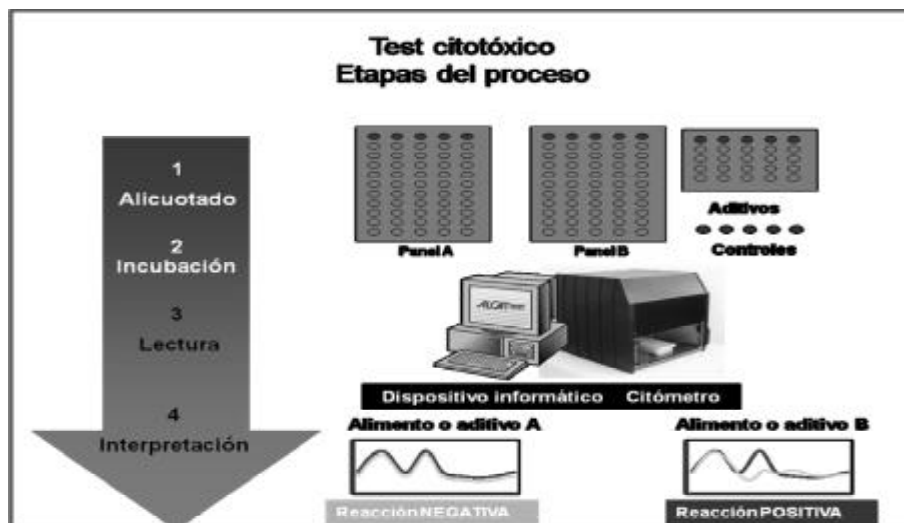
El **Test ALCAT**® es una patente americana que fue desarrollada y se empezó a aplicar en EEUU hace 18 años. Actualmente, se aplica en más de 20 países de todo el mundo.

En España, se dispone de una experiencia acumulada de más de 5 años y unos 10.000 pacientes.

Descripción del método

El test citotóxico determina la reactividad celular por lectura citométrica, la cual está relacionada con la modificación del número y del tamaño celular (Figura 2). Los tipos celulares que analiza el test y que son diana de los efectos adversos que causa la intolerancia son linfocitos, granulocitos y plaquetas.

FIGURA 2



El equipo automatizado mide el tamaño (en micras), el volumen (en femtolitros) así como el número de estos tipos celulares.

Las medidas se basan en los principios de la citometría. Las partículas presentes en suspensión, se encuentran en un líquido de conductividad y resistividad bien determinadas. Éstas emiten una señal durante su paso a nivel del canal del electrodo debido a la variación de la resistencia eléctrica inducida.

Después del tratamiento, cada alícuota es analizada por este sistema que separa las células en 256 canales. Cada canal es específico de un tamaño, lo que finalmente permite identificar el conjunto de partículas celulares situadas entre 4 y 904 femtolitros.

El analizador mide el número de células y su tamaño estableciendo una curva de distribución que para cada sustancia a analizar, se compara con la curva control. Ello asegura los cálculos de integración y tiene asimismo en cuenta todos los cambios observados en las poblaciones celulares. Los resultados se expresan numéricamente y en forma de histogramas.

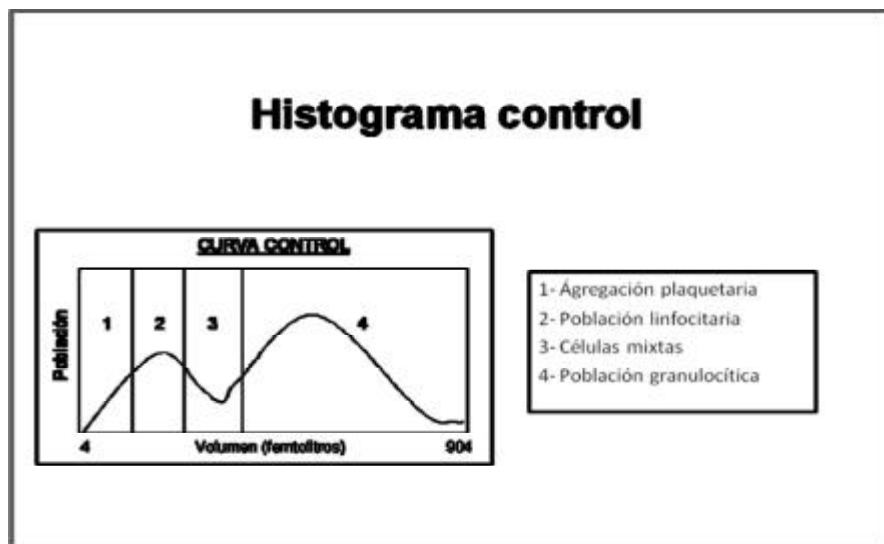
Interpretación de resultados

La distribución celular se materializa en forma de un gráfico (Figura 3) cuyo análisis permite la interpretación del nivel de reactividad celular.

Este gráfico ordena las células de menor a mayor en las abcisas indicando para cada una de ellas la numeración del orden.

El histograma final tendrá diferentes formatos dependiendo del paciente y de los desórdenes encontrados. Para resultados normales, deben observarse dos picos: el pico situado más a la derecha, tendrá un nivel más elevado que el de la izquierda (esta configuración estará invertida en niños menores de 3 años)

FIGURA 3



Aumento celular.

Los picos derecho y/o izquierdo de la curva, se desplazan hacia la derecha.

Degranulación parcial.

Los picos derecho y/o izquierdo de la curva, se desplazan a la izquierda.

Lisis celular.

Los picos izquierdo y/o derecho aparecen más bajos que la curva base, debido a una menor detección de células.

Agregación plaquetaria.

Evidenciada por la presencia de un pico suplementario en el extremo izquierdo del histograma.

Ausencia de reacción.

El histograma test y el histograma control, se superponen.

Los sujetos sanos, exentos de reacción de intolerancia, se caracterizan por valores bajos de reactividad celular, cercanos al 7%. Los pacientes sintomáticos, presentan valores cuyo nivel es generalmente superior al 11%.

Los estudios de reproducibilidad han sido llevados a cabo con éxito no siendo las variaciones significativas ($p < 0,02$) de un test a otro (repetición del mismo test con alícuotas de sangre provenientes de la misma toma de muestra frente al mismo extracto alimentario, así como del mismo test, con tomas de muestra del mismo paciente efectuadas con tres días de diferencia).

Se han constatado variaciones en la tolerancia para un mismo paciente en relación con la frecuencia de ingestión o exposición. Por tanto, un alimento analizado, no consumido por el paciente desde hace mucho tiempo, podrá dar un resultado negativo, y revelarse reactivo en caso de ingestión repetitiva.

Los resultados del **test citotóxico** se expresan en porcentaje de variación entre la curva estándar (media de las curvas de 10 controles para el **panel de alimentos** y de 5 controles para el **panel de aditivos** con la muestra de sangre sin extracto) y la curva test (muestra de sangre enfrentada al extracto a estudiar). Los resultados (Tabla 17) se clasifican según el nivel de reactividad celular.

TABLA 17

• POSITIVO ALTO	A eliminar
• POSITIVO MEDIO	A evitar
• POSITIVO BAJO	En el límite
• NEGATIVO	No reactivo

Positivo alto

Alimentos o sustancias potencialmente nocivas, con un nivel severo de intolerancia. Se indicarán en el dictamen en rojo y se clasificarán como sustancias a eliminar de la dieta.

Positivo medio

Alimentos o sustancias potencialmente reactivas, con un nivel fuerte o referenciable de intolerancia. Se indicarán el dictamen en color naranja y se clasificarán como sustancias a evitar en la dieta, lo cual supone, disminuir en cantidad y frecuencia su toma.

Positivo bajo

Alimentos o sustancias con bajo nivel de intolerancia. El profesional deberá valorar, según la historia clínica del paciente, si estas sustancias podrán incluirse, o no, en la dieta a seguir. Se indicarán en el dictamen en color amarillo.

Negativo

Alimentos o sustancias con valores de reactividad celular, inferiores al 9%, y por tanto, con nivel de intolerancia no significativo. Pueden incluirse en la dieta a seguir y se indicarán en el dictamen en color verde.

4.4.2.1.3. Consideraciones preanalíticas

Existen algunos factores que pueden producir interferencias con la realización del

Los **corticosteroides** y los tratamientos **antihistamínicos**, que pueden reducir eventuales reactividades.

En aquellos pacientes sometidos a tratamientos **anticoagulantes de acción antiagregante** (tipo aspirina), resulta difícil la interpretación del resultado.

Deberá haber transcurrido un **período mínimo de 10 días** sin exposición a estos fármacos, para poder realizar el test en óptimas condiciones.

De la misma manera, es preferible no realizar el test en pacientes que se encuentren en una situación fisiológica no habitual, como el embarazo, la lactancia o tratamientos oncológicos, dado que el resultado podría no corresponder con la realidad del paciente.

Hasta el momento, la experiencia en la aplicación del **Test ALCAT** en niños es limitada, por lo que deberá ser siempre supervisada por el pediatra.

4.4.2.1.4. Estudios y referencias bibliográficas

Existen multitud de publicaciones relativas a la aplicación del Test citotóxico en distintos ámbitos de aplicación clínica (estados de sobrepeso, medicina antienviejecimiento, migraña, patologías cutáneas, trastornos gastrointestinales, fatiga crónica, alteraciones respiratorias etc...)

5. TÉRMINOS Y CONCEPTOS BÁSICOS DE LAS REACCIONES ADVERSAS A LOS ALIMENTOS

Reacción adversa a un alimento

Es la respuesta clínica anormal que presentan determinados individuos, atribuida a la ingesta de un alimento (o un aditivo), que es perfectamente tolerado por la gran mayoría de las personas.

Alergia o hipersensibilidad alimentaria

Es la reacción adversa, de etiología inmunológica comprobada, que presenta un individuo tras la ingesta de un alimento. Se produce en algunos

individuos previamente sensibilizados y puede ocurrir después de la ingesta de pequeñas cantidades del alimento.

Intolerancia alimentaria

Es la respuesta clínica a un alimento en cuya patogénica no interviene, o no se ha podido demostrar, un mecanismo inmunológico. Puede incluir respuestas de tipo farmacológico, metabólico, tóxico o de idiosincrasia.

Anafilaxia alimentaria

Es sinónimo de hipersensibilidad o alergia inmediata. La causa es una reacción mediada por IgE, con liberación de mediadores químicos tras el contacto con el alimento.

Reacción alimentaria anafilactoide o Pseudoalergia alimentaria

Es la reacción ocasionada por el alimento, clínicamente similar a la anafiláctica y ocasionada por la liberación de mediadores químicos de etiología no inmunológica.

Intoxicación alimentaria

Es el efecto adverso causado por la acción de un alimento o aditivo, sin intervención de mecanismo inmunológico alguno. Las toxinas pueden encontrarse en el propio alimento o ser liberadas por microorganismos contaminantes. La contaminación del alimento también puede ser por sustancias químicas (metales pesados) o por el uso inadecuado de pesticidas o productos químicos agrícolas.

Idiosincrasia alimentaria

Es la respuesta cualitativa y cuantitativamente anormal a un alimento o aditivo, no relacionado con sus acciones fisiológicas o

farmacológicas y cuya patogenia no es inmunológica. Aparece en determinados grupos de personas que puedan estar genéticamente predispuestas.

Reacción alimentaria farmacológica

Es la que se produce ante un alimento o aditivo y los productos químicos naturales o añadidos que producen un efecto farmacológico en el individuo. Suele desencadenarse por la acción de alimentos que contienen aminas vasoactivas y otras sustancias farmacológicamente activas que afectan especialmente al tubo gastrointestinal y al sistema nervioso central.

Reacción alimentaria metabólica

Es la reacción adversa ante un alimento o aditivo, ocasionada por su acción sobre el metabolismo del individuo. Suele presentarse por diversas causas no inmunológicas, como la administración simultánea de ciertos fármacos, errores innatos del metabolismo y deficiencias enzimáticas.

Fobia alimentaria

En algunos casos el efecto indeseado producido por un alimento puede reconocer solamente etiología psicósomática (fobia al alimento) y clínicamente simula en todo una reacción alérgica alimentaria.

DIRECCIÓN DE INTERÉS

www.seaic.org

En la página web de la Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica se pueden encontrar todos los enlaces y direcciones de interés, así como las direcciones de las Sociedades de Alergia, regionales e internacionales

BIBIOGRAFÍA

- 1- Manual de alergia alimentaria . – A. Malet . - Editorial Masson
- 2- Reacciones alérgicas a alimentos . – C. Pérez Santos . – UCB Pharma
- 3- Alergia a alimentos . Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica
- 4- Tratado de Alergología. – A. Pelaez .- SEIAC
- 5- Tratado de alergología e Inmunología Clínica . – SEIAC
- 6- Alergia. Principios y práctica . E. Middleton – Editorial Salvat
- 7- Enfermedades alérgicas.- Patterson. – Ediciones CEA
- 8- 21- Malet A, Ruiz de Le6n J, Valero A et al. In vivo and in vitro evaluation of fow antihistamines (astemizole, azatadine, mequitazine, terfenadine). Allergol Immunopathol 1989,17, 2:85-93.
- 9- Hombwger HA, Katzmman JA. M6todos de laboratorio en inmunología. En Middleton E, Reed ChE, Ellis EF, Adkinson NF, Yyngiger JW (dirs.): Alergia: principios y prictica, tomo I. Barcelona: Salvat Editores, 1992; 380-395.
- 10- Amat P, Sanosa J, Lluch M, Malet A, Garcia PA. Diet fruit hypersensivity and its correlation with polen allergy. Allergol Immunopathol 1990, 18:27-34.
- 11- Amat P, Novella A, RomA J, Valero A, Lluch M, Malet A. Treatment of perennial allergic rhiitis with cetirizine. Allergol Immunopathol 1992, 20:139-143.
- 12- Bjorksten F, Halrnepum L. Extraction properties of apple allergens. Allergy 1980, 35:671- 673.
- 13- Chua Y, Bremmer K, Lakdawalla N et al. In vivo and in vitro correlates of food allergy. J. Allergy Clin Immunol 1976,58:299-306.

- 14- Garcia BE, Sanz ML, Fernhdez M. Dikguez I, Oehling A. Value of IgG, antibodies against food in atopic dermatitis. Allergol Immunopathol 1990, 18, 4:187-190.
- 15- Kaats GR, Pullin D, Parker LK: The short term efficacy of the ALCAT Test of food sensitivities to facilitate changes in body composition and self reported disease symptoms: A randomized controlled study. Amer J Bariatric Medicine Spring 1996;18-23.
- 16- Rivera R, Deutch R: Your hidden food allergies are making you fat. Prima Health 2001 4^a edition.
- 17- Salomon B A: The ALCAT Test—A guide and barometer in the therapy of environmental and food sensitivities. Environmental Medicine 1992; 9 :1-2.
- 18- Rivera, M.D., Deutsch Your hidden food allergies are making you fat. 1998.
- 19- Fell PJ: Pilot study into the effect of naturally occurring pharmacoactive agents on the ALCAT Test Annual Meeting of the American Otolaryngic Allergy Association, Kansas City September 27 1991.
- 20- Kaats GR, Pullin D, Parker LK: The short term efficacy of the ALCAT Test of foodsensitivities to facilitate changes in body composition and self reported disease symptoms: A randomized controlled study. Amer J J Bariatric Medicine Spring1996; 18-23.
- 21- Fell PJ, Brostoff, Soulsby S: Alcat “A new cellular test for food sensitivity” Annual Meeting of the American In-Vitro Allergy and Immunology Society.Toronto 1990.
- 22- Neetling WML: Reproducibility of the antigen leucocyte cellular antibody test (ALCAT) Orange Free State in Bloemfontein, South Africa, Jan-April 1998.

- 23- F.Titus, C.Fraga y J.M. Martínez. Clasificación y criterios diagnósticos de las cefaleas, las neuralgias craneales y el dolor facial. MCR, Barcelona,1992.
- 24- Hoj L. Food intolerante in patients with angioedema amd chronic urticaria: An investigation by RAST and ALCAT Test. European Journal of Allergy and Clinical Immunology 1995; 26 (50).
- 25- Rivera R, Deutsch R: Your hidden allergies are making you fat. Prima Helth 2001 4ª edición.
- 26- Neetling WML: Reproducibility of the antigen leucocyte cellular antibody test (ALCAT) Orange Free State in Bloemfontein, South Africa, Jan-April 1998.

TECNOLOGÍA DE ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS Y APLICACIONES PARA LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Vázquez, M.

Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela.

27002- Lugo (España)

Correo electrónico: vazquezm@usc.es

Resumen

Los tratamientos térmicos son el método tradicionalmente utilizado para alcanzar la estabilidad o conservación de los alimentos. Aunque esta tecnología es efectiva, económica y accesible comercialmente, en muchos casos su aplicación ocasiona pérdidas importantes de calidad o altera la naturaleza fresca del producto. En cambio, los tratamientos utilizando altas presiones a temperatura de refrigeración, ambientales o con calentamiento moderado, permite la inactivación de microorganismos patógenos y alterantes de la calidad con cambios mínimos en la textura, color y sabor del alimento en comparación con el efecto que tienen las tecnologías convencionales. Un ejemplo de aplicaciones de bajo coste es el desconchado de mariscos, particularmente el de ostras, el que requiere niveles de presión en el intervalo de 200 a 400 MPa. Por otro lado, la estabilización de aguacate así como la de salsa guacamole, utilizando una presión de 550-600 MPa, son aplicaciones de más alto coste.

INTRODUCCIÓN

La conservación por tratamiento térmico es el método tradicionalmente utilizado para alcanzar la estabilidad microbiológica de los alimentos. Aunque esta tecnología es efectiva, económica y accesible comercialmente, en muchos casos su aplicación ocasiona pérdidas importantes de calidad o altera la naturaleza fresca del producto. En cambio, el tratamiento por alta presión hidrostática (APH) a temperatura de refrigeración, medio ambiente o con calentamiento moderado, permite la inactivación de microorganismos patógenos y alterantes de la calidad con cambios mínimos en la textura, color y sabor del alimento en comparación con el efecto que tienen las tecnologías convencionales (Velazquez y cols, 2005a,b; Torres y Velazquez, 2004; Velazquez y col., 2002; Cheftel, 1995; Knorr, 1993).

La conservación de la calidad y frescura de los alimentos tratados por presión se debe a que las condiciones presión-temperatura-tiempo que se usan ocasionan sólo ligeros cambios químicos, por lo que no afectan a sus propiedades sensoriales y nutricionales. Diversos estudios han demostrado que los productos tratados por alta presión mantienen las características de un producto fresco, de tal forma que en muchos casos es prácticamente imposible distinguirlos de un producto fresco no tratado.

El primer estudio de alimentos tratados por APH que se puede encontrar en la literatura corresponde al de Hite (1899) quien aplicó un proceso de 670 MPa durante 10 min a la leche y detectó una disminución de 5-6 ciclos logarítmicos en la cuenta microbiana total. Hite comprobó también que la carne sometida a 530 MPa durante 1 h mostraba un crecimiento microbiano insignificante después de tres semanas. Posteriormente, Bridgman (1914) demostró la coagulación de la albúmina de huevo por efecto de la presión hidrostática. Durante mucho tiempo, la investigación del efecto de APH sobre los alimentos permaneció inactiva debido

principalmente a la falta de unidades comerciales apropiadas para el procesado de alimentos. Sin embargo, en las últimas dos décadas, se han establecido importantes programas de investigación sobre esta tecnología en Japón, Europa, América Latina y Estados Unidos de América (EUA).

EQUIPOS

Los componentes clave de las unidades APH son los contenedores de alta presión y las bombas intensificadoras, cuya función es elevar la presión sobre el alimento a tratar. En estas bombas se inyecta aceite a ~20 MPa en la cámara de baja presión del intensificador, diseñado con una proporción de ~30:1 en área entre la del pistón del aceite y del pistón del fluido a alta presión, generalmente agua purificada, en forma similar al principio de operación de un gato hidráulico. La configuración de este dispositivo permite generar una presión aproximada de 600-700 MPa en el contenedor de alta presión. Cuando el pistón que mueve el aceite alcanza su máximo desplazamiento posible, su dirección de desplazamiento se invierte alimentando aceite en el lado opuesto del pistón, por lo que el fluido a alta presión es expulsado hacia el contenedor de alta presión por el lado opuesto de la bomba. Cabe mencionar aquí que un intensificador durable y capaz de alcanzar la presión de operación en tiempos cortos mejora significativamente la rentabilidad de una planta APH. En las plantas comerciales se utilizan 4 o más intensificadores por contenedor de alta presión y que pueden ser compartidos con otros contenedores.

Por razones de tecnología metalúrgica, la construcción de un contenedor de alta presión a partir de un solo bloque de material está limitada a recipientes con una capacidad máxima de ~25 L para operar a un límite de ~400 MPa. Para volúmenes y presiones mayores se pueden usar tanques reforzados con cable de acero u otra tecnología. Por lo general, se

usa la misma tecnología para la fabricación del yunque que sostiene los sellos superior e inferior del contenedor (Figura 1).

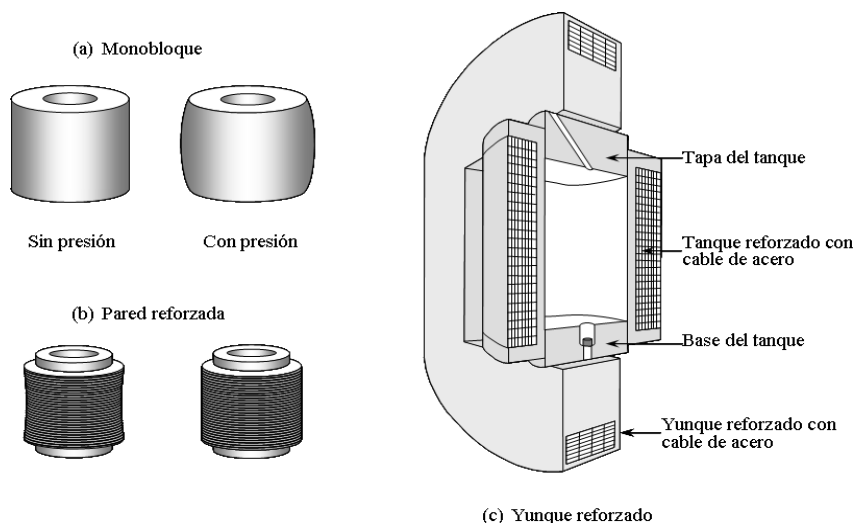


Figura 1. Tecnologías de recipientes para los tratamientos AHP (Adaptada de Velazquez y col. 2005a): (a) Tecnología de monobloque para recipientes de volumen y presión menores. (b) Tecnología de paredes reforzadas para recipientes de volumen y presión mayores. (c) Yunque reforzado utilizado para retener la tapa y base de los recipientes de volumen y presión mayores.

El reforzamiento del yunque y del contenedor de alta presión, por embobinado con cable de acero u otra tecnología, incrementa el coste del equipo, conduciendo a una clasificación de las aplicaciones AHP dependiendo de su posición con respecto a la barrera tecnológica de ~400 MPa (Figura 2).

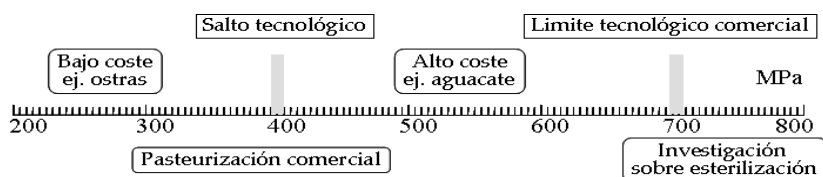


Figura 2. Límites tecnológicos de los equipos para tratamientos AHP

Una segunda barrera tecnológica está ubicada a valores cercanos a 700 MPa, ya que sobre este nivel de presión no existen equipos para aplicaciones comerciales. Sin embargo, se espera que la siguiente generación de equipos alcance mayores niveles de presión y opere a temperaturas incluso superiores a 100 °C. Este avance abrirá la posibilidad de desarrollar productos esterilizados, pero ello requiere investigar estrategias efectivas para la inactivación de esporas bacterianas por procesos combinados de presión y calor (Ting, 2003). En la actualidad y para evitar la germinación de las esporas bacterianas, los productos obtenidos por alta presión necesitan de refrigeración, actividad de agua reducida (A_w) o bajos valores de pH.

EFFECTO SOBRE MICROORGANISMOS

Los tratamientos de APH alteran las membranas celulares de las bacterias afectando los procesos de transporte celulares relacionados con la obtención de nutrientes y la liberación de desechos. Experimentos realizados para detectar la presencia de compuestos del líquido intracelular en el fluido de suspensión extracelular, después de un tratamiento de presión, demuestran que cuando las células se someten a condiciones de presión se dañan las membranas (Shimada y col., 1993). El daño a las membranas causa la muerte celular, sugiriendo que los estudios de exclusión de colorantes utilizados para detectar este efecto pueden ser usados para la caracterización de la inactivación microbiana por presión (Ulmer y col., 2000).

Los efectos de APH sobre las proteínas de la membrana de *S. typhimurium* fueron estudiados por Ritz y col. (2000). Los patrones de electroforesis de las membranas exteriores en las bacterias sin tratamiento revelaron la existencia de 3 proteínas mayores y 12 menores. Sin embargo, después del tratamiento APH solamente pudieron recuperarse 2 proteínas

mayores sugiriendo efectos importantes sobre las conformaciones de las proteínas restantes y que modificaron su solubilidad. Bajo condiciones ácidas, una de estas proteínas mayores fue más resistente a la presión, sugiriendo la existencia de una conformación proteica más estable a pH reducido. Estos resultados indican que un mejor conocimiento del comportamiento de las proteínas de las membranas bacterianas sometidas a presión, bajo diferentes condiciones de pH, podría conducir hacia el desarrollo de tratamientos APH más efectivos. El mismo conocimiento podría conducir al desarrollo de nuevas aplicaciones para APH.

La velocidad de la descompresión después del tratamiento APH tiene un efecto importante sobre la inactivación de las bacterias. Noma y col. (2004) investigaron el efecto bactericida del tratamiento de alta presión hidrostática seguida de una descompresión lenta (~30 s) o rápida (~2 ms) sobre células de *E. coli* O157:H7. La descompresión rápida produjo una mayor inactivación que la descompresión lenta. En la práctica comercial, este efecto no se ha utilizado pues no es una buena opción técnica ya que incrementa los costes de mantenimiento y operación de la unidad.

La temperatura de incubación y el estado fisiológico de una bacteria, tienen un efecto importante en la susceptibilidad a la inactivación por presión hidrostática. La resistencia a la presión (200 ó 400 MPa) de las células de *E. coli* NCTC 8164 en fase exponencial alcanza su más alto nivel cuando se incuban a 10 °C, disminuyendo al aumentar la temperatura de incubación a 45 °C (Casadei y col., 2002). En cambio, la resistencia de las células en fase estacionaria es mínima cuando la temperatura de crecimiento es de 10 °C, aumentando al incrementar la temperatura de crecimiento, con un máximo a 30-37 °C y disminuyendo nuevamente a 45 °C. Este efecto de la presión se ha correlacionado con la proporción de ácidos grasos no saturados en los lípidos de la membrana, la cual decrece con la temperatura de crecimiento tanto en la fase exponencial como en la estacionaria. En las células en fase exponencial, la resistencia a la presión

aumenta con una mayor fluidez en la membrana, mientras que en la fase estacionaria, no se observa ninguna relación entre fluidez de la membrana y resistencia a la presión.

Efecto sobre esporas bacterianas

Las esporas bacterianas, a diferencia de las células vegetativas, son mucho más resistentes a la presión (Reddy y col., 1999; Sangsuk y Myoung, 2003). La determinación de las esporas más baroresistentes asociadas con intoxicación por alimentos, así como la investigación de los mecanismos responsables de la diferencia entre cepas resistentes a la presión (RP) y sensibles a la presión (SP), son de importancia crítica para el avance de la tecnología APH. También es muy importante determinar que tipo de aditivos favorecen la inactivación de las esporas por medio de la presión (Stewart y col., 2000; Shearer y col., 2000; Capellas y col., 2000).

La Food and Drug Administration (FDA) en EUA establece que todos los alimentos de baja acidez mantenidos a temperatura ambiente en recipientes herméticamente cerrados deben estar libres de esporas de *C. botulinum*. Este requerimiento es un reto que la tecnología APH aún no ha logrado superar. Es importante mencionar que las esporas de *C. perfringens* son más resistente que las de *C. botulinum*. Además, los alimentos contaminados por *C. perfringens* tipo A ocupan el tercer lugar entre las enfermedades transmitidas por alimentos en EUA (Olsen y col., 2000). Es posible que se pueda inactivar esporas bacterianas con tratamientos cíclicos de presión, o alta presión a temperaturas elevadas pero inferiores a las utilizadas en la esterilización convencional o combinaciones de ambas estrategias (Capellas y col., 2000; Meyer y col., 2000). Además de la temperatura y pH inicial, la evaluación de estas alternativas debe considerar el calentamiento adiabático debido a la compresión del alimento el cual se estima en 3 °C por 100 MPA, pero es mayor si el alimento contiene una cantidad importante de materia grasa. En sistemas adiabáticos, es decir sin

pérdidas de calor al fluido de compresión y el contenedor APH, el alimento regresa a su temperatura original de forma instantánea durante la descompresión.

El material genético en la espora se encuentra protegido contra el daño físico y químico por un grupo de proteínas ligadas al ADN. Son pequeñas proteínas solubles en ácido (SASP, por sus siglas en inglés) con un peso molecular de 5-7 kDa y representan el 10-20% del contenido proteico de una espora (Setlow, 1995). Las esporas de mutantes de *Bacillus subtilis* que no poseen estas proteínas son mucho más sensibles al calor y la presión que las esporas silvestres (Paidhungat y col., 2002). La función que desempeñan las SASP en la resistencia al calor del *C. perfringens* se encuentra actualmente bajo investigación para determinar su función en resistencia a APH (Sarker y col., 2000) así como su proceso de germinación y los receptores involucrados (Paredes-Sabja y col., 2007a).

Por lo tanto, actualmente la inactivación de esporas bacterianas requiere de una tecnología combinando presión hidrostática, temperatura alta y muchos otros factores. Los tiempos cortos de tratamiento son una ventaja importante de los procesos combinados utilizando APH. Por ello los cambios de calidad, debido al uso de temperatura moderadamente alta que se considera necesaria para inactivar esporas, no serán tan importantes en comparación con los cambios observados en los procesos térmicos convencionales.

Finalmente, la inducción de la germinación causada por la presión necesita ser investigada para mejorar la efectividad de los tratamientos por alta presión. Paidhungat y col. (2002) demostraron que las esporas de *B. subtilis* sin receptores de germinación, germinan más lentamente que las esporas silvestres. A 100 MPa no es posible inducir su germinación; sin embargo, una presión de 550 MPa induce la liberación de ácido dipicolínico y la germinación en esporas sin receptores de germinación, incluso cuando éstas no contienen una o dos de las enzimas esenciales para la hidrólisis de

la corteza. Los resultados sugieren que una presión de 100 MPa activa los receptores de germinación, mientras que una de 550 MPa abre los canales que liberan el ácido dipicolínico desde el interior de la espora, conduciendo a la germinación.

Mecanismos de inactivación de virus

Aunque recientemente se han publicado diversos estudios con respecto al efecto que tiene APH sobre los virus, se desconocen todavía muchos aspectos del mecanismo de inactivación por presión. Los virus son un grupo de organismos estructuralmente diverso, por lo que el efecto de APH sobre cada grupo podría ser distinto. La inactivación de un virus puede deberse a alteraciones sutiles de las proteínas de la cápside viral, ya que generalmente no se observan alteraciones de los ácidos nucleicos (Kingsley y col., 2002). Los poliovirus son quizás los virus más resistentes a APH ya que no se han observado signos de inactivación utilizando tratamientos relativamente fuertes tales como 600 MPa a 20 °C durante 60 min (Wilkinson y col., 2001). Algunos autores sugieren que la elevada resistencia de los poliovirus a APH está relacionada con el tamaño y forma de la partícula vírica (Wilkinson y col., 2001) o con su alta estabilidad termodinámica (Oliveira y col., 1999).

Utilizando medios sintéticos, se ha comprobado que presiones de 450 MPa durante 5 min logran 7 reducciones logarítmicas del virus de la hepatitis A (HAV). Sin embargo, el efecto de la matriz alimentaria puede ser importante. Por ejemplo, en la inactivación de este mismo virus en ostras, 400 MPa durante 1 min a temperaturas de 8.7-10.3 °C logran 3 reducciones logarítmicas (Calci y col., 2005). Aunque el tiempo de tratamiento fue menor en el segundo caso, el nivel de presión fue similar, y este es el factor predominante que determina el grado de inactivación del virus. Es probable que este incremento en la resistencia se deba al efecto protector de la sal del agua de mar presente en las ostras (Kingsley y col., 2002).

EFFECTO SOBRE PROTEÍNAS Y ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Los cambios estructurales en las proteínas ocasionados por los tratamientos de APH parecen diferir de aquellos causados por la temperatura elevada (Mozhaev y col., 1996). Cuando se aplica presión a las proteínas, ocurre una disminución en su volumen que puede ocasionar una desnaturalización. Las reacciones que requieren un cambio negativo en el volumen ($- \Delta V^*$) serán favorecidas, mientras que las reacciones que requieren un cambio positivo en el volumen ($+ \Delta V^*$) serán inhibidas (Vázquez-Landaverde y col., 2007). Esto significa que las reacciones con ΔV^* positivo que se observan comúnmente durante el tratamiento térmico, podrían no tener lugar durante el tratamiento por alta presión, a menos que encuentren un mecanismo alternativo de reacción que implique una reducción en el volumen.

Se han observado efectos reversibles en proteínas tratadas a presiones de 100-200 MPa, donde las proteínas oligoméricas se disocian en subunidades, posiblemente por el debilitamiento de las interacciones hidrofóbicas. Por otro lado, las estructuras monoméricas se desnaturalizan parcialmente debido a la ruptura de las interacciones hidrofóbicas intramoleculares y de los puentes salinos. A presiones mayores de 200 MPa, muchas proteínas tienden a desnaturalizarse y puede ocurrir una reasociación de las subunidades a partir de los oligómeros disociados (Balny y Masson, 1993). Después del tratamiento de presión, muchas proteínas regresan a una conformación macromolecular modificada que puede ser similar a la forma nativa, pero no necesariamente idéntica (Galazka y Ledward, 1996).

Otros investigadores han estudiado la desnaturalización de las cadenas proteicas inducida por presión y la función que desempeñan los grupos -SH y S-S. Generalmente, ocurre un desdoblamiento de la proteína durante el tratamiento por alta presión, seguido por la formación de

agregados hidrofóbicos estabilizados por enlaces disulfuro después de la aplicación de presión (Funtenberger y col., 1997). A niveles de presión superiores a 300 MPa y en presencia de oxígeno, puede ocurrir una oxidación de los grupos sulfidilo, promoviendo la formación de puentes disulfuro intermoleculares por reacciones de intercambio -SH/S-S mediadas por el ataque nucleofílico de un enlace disulfuro por la forma ionizada S^- de un grupo -SH (Galazka y Ledward, 1996).

El efecto de la presión y la temperatura sobre la desnaturalización de proteínas ha sido descrito por Hawley (1971) en un diagrama presión-temperatura (Figura 3).

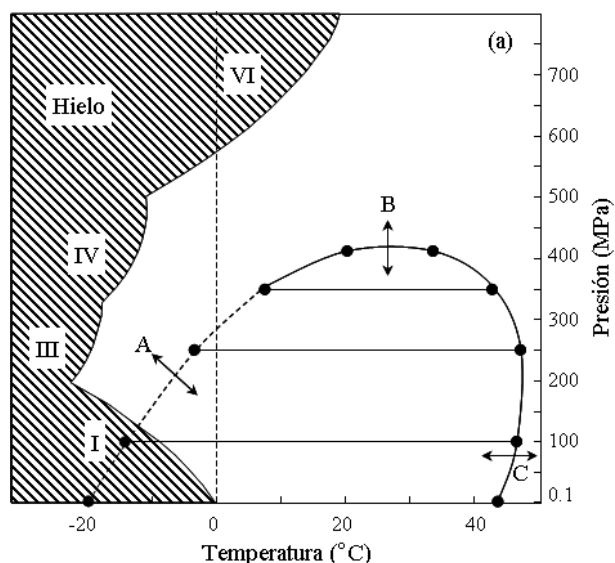


Figura 3. Diagrama presión-temperatura de la desnaturalización de proteínas.

La desnaturalización ocurre en la región fuera de la curva elíptica, e incluye tres áreas: desnaturalización por frío (A), desnaturalización por presión (B) y desnaturalización por calor (C). Los límites inferiores y

superiores de la desnaturalización por calor y por frío se aproximan a presiones más altas.

Los cambios conformacionales en las proteínas causados por alta presión hidrostática indican que las enzimas en los alimentos podrían sufrir una alteración en su actividad biológica después de ser sometidas a tratamientos de presión. Finalmente, experimentos realizados con lisozima han demostrado que la presión a la cual se inicia la desnaturalización es mayor cuando la presión se aplica más lentamente (Heremans y Wong, 1985; Wong y Heremans, 1988). Esto es muy importante, pues revela que los efectos dinámicos de la presión podrían jugar un papel muy importante en la estabilización de alimentos por APH.

EJEMPLOS DE APLICACIONES

APH es la única tecnología alternativa de procesado que en la actualidad ofrece a los consumidores una gran variedad de nuevos productos. La exitosa introducción de una nueva tecnología para la conservación de alimentos requiere de ventajas competitivas sobre las tecnologías existentes. Un ejemplo de avance tecnológico que no ha logrado un amplio éxito comercial, por no tener una clara superioridad sobre las alternativas hoy en uso industrial, es el procesado aséptico de alimentos que contienen sólidos. Si bien esta tecnología logra grandes ventajas de calidad sensorial y de coste en el procesado de leche, zumos y otras bebidas, no ocurre lo mismo cuando el alimento es un fluido con partículas suspendidas. Si bien las tecnologías de procesado aséptico para este tipo de alimentos existen en el mercado, y además se han desarrollado métodos confiables de cálculo para la validación de procesos, la calidad sensorial del producto obtenido es sólo un poco superior a la que se puede obtener procesándolos en un envase flexible calentable. La falta de una clara ventaja de calidad para el procesado aséptico de fluidos con partículas

suspendidas no justifica la alta inversión requerida para esta compleja tecnología lo que explica el porqué no ha sido ampliamente implementada.

En el caso de la tecnología APH, una restricción adicional es la inversión relativamente alta de capital inicial. Esta desventaja se compensa operando la planta de APH a su máxima capacidad durante todo el año y también aprovechando sus bajos costes de operación. En el caso de materias primas estacionales, se requiere una combinación de productos para aprovechar al máximo la inversión en una planta APH.

Un caso que ilustra la creatividad para aprovechar la oportunidad de negocios que representa la tecnología APH lo protagonizaron los productores de manzanas en Portugal, quienes en los últimos años han visto disminuir su participación en el mercado de fruta fresca debido a la fuerte competencia de manzana importada de buena calidad y a precios competitivos. A esa situación de mercado, la Cooperativa de Hortifruticultores Frubaca, C.R.L., respondió reconociendo que la tecnología APH permite crear nichos de mercado en los cuales se puede competir favorablemente (Torres y Ríos, 2006). Así, primero invirtió en mejorar las prácticas agrícolas y de post-cosecha para aumentar la calidad de las manzanas. Después de ello, construyó una pequeña pero moderna planta refrigerada para producir zumo, poniendo especial énfasis en las condiciones sanitarias y las herramientas tecnológicas para destinar la mejor manzana a zumo pasteurizado por APH. Sin embargo, estas inversiones no fueron suficientes, pues el mercado del zumo de manzana es uno en el cual compiten numerosos y grandes productores. La estrategia que logró el éxito comercial para esta cooperativa fue la de utilizar su zumo de manzana para formular productos de alto valor agregado para consumidores que exigen además de calidad, una experiencia sensorial diferente. Con el fin de satisfacer este mercado, Frubaca desarrolló una serie de bebidas con base zumo de manzana saborizadas con concentrados de frutas tropicales y subtropicales (Figura 4). Así, utilizó el

tratamiento APH para proteger la alta calidad de su zumo y los atractivos sabores naturales de las distintas formulaciones, y con ello logró esta cooperativa el éxito en el mercado local.



Figura 4. Productos y unidad APH de Avure Technologies Inc., de la Cooperativa de Hortifruticultores Frubaca, C.R.L., Alcobaca, Portugal.

A continuación se muestran ejemplos específicos de las diversas oportunidades en las que APH presenta ventajas competitivas.

Demanda de productos frescos y libres de aditivos químicos

El ejemplo clásico de satisfacción de la demanda del consumidor por un producto fresco es el procesado por alta presión del aguacate. El éxito comercial de la pasta de aguacate producida por la empresa Avomex Inc., ahora produciendo bajo el nombre de Fresherized Foods Inc., estableció un estándar de calidad para la tecnología APH en los Estados Unidos de América (EUA). Fresherized Foods, Inc. inició sus operaciones en 1996 con una unidad de alta presión de Flow International Corp.

(actualmente opera la subsidiaria Avure Technologies Inc.). El aguacate tratado por alta presión fue aceptado en el mercado de EUA debido a que existía una demanda no satisfecha del consumidor por un producto con una vida útil aceptable, fácil de usar y libre de aditivos químicos.

Muchos estudios realizados durante la década de los 90 sobre el tratamiento APH de productos frescos se basaron en tratamientos a presión relativamente baja y por ende con tiempos largos de proceso, por lo general de 5 á 15 min a aprox. 400 MPa. Estos tratamientos reflejan las limitaciones tecnológicas de los equipos de laboratorio disponibles en esa década. En la actualidad, las unidades comerciales para los tratamientos APH operan a presiones más elevadas, permitiendo tiempos de proceso de 1-3 min, lo que reduce significativamente los costes de producción (Rogers, 1999; Anónimo, 1999, 2000). Por ello es sorprendente encontrar en la literatura actual tratamientos APH con tiempos superiores a 15 min, pues estos no tienen ninguna posibilidad de viabilidad comercial.

Efecto único de un proceso por alta presión

El ejemplo clásico de un efecto único por tratamiento APH es el desconchado por presión hidrostática moderada de ostras y otros mariscos (Figura 5). En 2002, California prohibió la venta de ostras crudas cosechadas en el Golfo de México entre Abril y Octubre, lo que representó una pérdida de mercado estimada en 20 millones de dólares/año. En EUA, hoy en día los establecimientos que venden ostras crudas deben exhibir un aviso advirtiendo sobre el peligro de consumir ostras crudas provenientes del Golfo de México (<http://www.dhs.ca.gov/>), lo que afecta al consumo total de ostras. En el estado de Louisiana, 7 de 11 casos reportados de consumo de ostras contaminadas con *Vibrio vulnificus* han resultado en muerte (Culbert, 2008).



Figura 5. Ostras procesadas por APH de la empresa Nisbet Oyster Company (Bay Center, Washington, EUA) bajo la marca registrada Goose Point Oysters

El proceso de desconchado por APH fue descubierto en 1997 y consiste en someter ostras vivas a presiones de 240-350 MPa durante ~3 min. Estos tratamientos moderados de alta presión desnaturalizan el músculo abductor y por ello las ostras pueden ser abiertas con un mínimo esfuerzo evitando el daño al producto causado por el cuchillo durante el desconchado convencional. La simplificación del costoso y laborioso desconchado es el avance más importante para esta industria en los últimos 100 años (Morrissey, 2003). Más importante aún es la eliminación de accidentes de los operarios con los cuchillos utilizados para el desconchado. A ello se agrega el incremento de la vida útil bajo refrigeración durante tres semanas y la reducción del riesgo microbiano para los consumidores de ostras crudas, ya que el desconchado por APH inactiva los patógenos *Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. cholerae*, *V. cholerae* no-O:1, *V. hollisae* y *V. mimicus* (Berlin y col., 1999). El procesado a bajas temperaturas (inferiores a 20°C) acelera la inactivación. Por ejemplo, una reducción de *V. vulnificus* superior a 5 ciclos logarítmicos se alcanza en menos de 4 min a presiones superiores de 250 MPa si la

temperatura se mantiene entre -2 y 1 °C. Productos basados también en la desnaturación de la proteína por tratamiento APH son la extracción de carne de langosta, cangrejo y centolla (cangrejo rey en México) cruda. Entre las principales ventajas de esta aplicación están la calidad sanitaria y la mayor recuperación de carne como puede mostrarse para el caso de cangrejo, camarón y langosta. Sin duda la razón más importante para la rápida aceptación de esta aplicación del tratamiento APH ha sido el poder eliminar el tratamiento térmico.

Alto riesgo empresarial debido a la presencia de patógenos

Existen muchos casos en los que aún las mejores prácticas de manufactura no logran producir un alimento libre de patógenos, sin embargo, el producto se mantiene en el mercado debido a su fuerte demanda de consumo. Por ejemplo, los productores de pescados y mariscos ahumados en frío no pueden garantizar la inocuidad de estos productos y se presentan casos de contaminación con *L. monocytogenes*. Estudios realizados por la FDA han encontrado a este patógeno en productos ahumados en frío con una frecuencia del 17%. Este problema también afecta a los productores de pescados y mariscos ahumados por el proceso tradicional, debido a que los mismos estudios han encontrado una incidencia del 4% para *L. monocytogenes* (Heintz y Johnson, 1998). Las mejores prácticas de manufactura y manejo para salmón ahumado en frío sólo logran reducir la incidencia de *L. monocytogenes* a <1 ufc/g, y esta es la razón por la cual estos productos resultan positivos en los procedimientos de detección utilizados por las agencias reguladoras, donde los métodos de análisis utilizados tienen una sensibilidad de 0.04 ufc/g. Hasta la fecha no se han detectados casos de brotes de listeriosis causados por salmón ahumado; sin embargo, las inspecciones realizadas por las agencias reguladoras conducen a frecuentes rechazos de producto, lo cual representa pérdidas económicas considerables para la industria y el

consiguiente desprestigio del procesador. Este impacto podría reducirse con un proceso adecuado de APH con el objetivo de lograr 5 reducciones logarítmicas de *L. monocytogenes* con un mínimo de daño a la textura del producto ahumado.

Un ejemplo de interés industrial, por la eliminación de riesgos microbiológicos, es la preparación de productos de pescado reestructurados a partir de especies poco utilizadas, como es el caso del lenguado *Atheresthes stomias*, una especie de bajo valor comercial debido a la presencia de altas concentraciones de proteasas en el músculo que no permiten su comercialización como filete fresco. La utilización de pescado crudo molido para crear productos reestructurados representa un riesgo de contaminación por la manipulación en la etapa de post-captura y procesado, incluyendo fileteado, molienda, solubilización de la proteína con sal, estructurado del producto y finalmente su envasado. El tratamiento APH puede reducir la carga microbiana y al mismo tiempo actúa como una alternativa para inducir la gelificación de las proteínas miofibrilares sin la necesidad de aplicar calor y de esta forma obtener productos similares al pescado crudo. El tratamiento a 400-600 MPa de la pasta de lenguado *Atheresthes stomias* permite la obtención de productos con buenas características funcionales y mecánicas. Estas condiciones de presión son suficientes para inactivar parásitos y la mayoría de los microorganismos patógenos y alterantes de la calidad que podrían contaminar este producto.

Los tratamientos APH inducen la agregación de las proteínas miofibrilares en la pasta de lenguado después de ser solubilizadas con una solución salina. En el proceso de formulación de productos reestructurados utilizando APH a temperatura de refrigeración, se induce una agregación dominada principalmente por interacciones de proteínas parcialmente desnaturizadas y sin modificaciones importantes en su conformación molecular (Uresti y col., 2004, 2005a,b, 2006). Durante los tratamientos de presión, los enlaces intermoleculares de las proteínas parecen romperse a

una velocidad de reacción con constante k_1 , induciendo cambios importantes de conformación. La desnaturalización de estas proteínas favorece su agregación a una velocidad de reacción con constante k_2 (Figura 6). El comportamiento observado sugiere que estas constantes son tales que $k_1 < k_2$ y por ello la agregación de las proteínas desnaturalizadas ocurre rápidamente; sin embargo, la agregación de proteínas en estado nativo y caracterizada por una constante de reacción k_3 parece predominar, por lo que el sistema puede caracterizarse como $k_3 \gg k_2 > k_1$. La agregación de las proteínas miofibrilares debido a los tratamientos APH limita la utilización de esta tecnología en la pasteurización de productos crudos, tales como el salmón ahumado en frío, debido a que la textura se modifica como resultado de la agregación proteica. Sin embargo, este efecto podría controlarse mediante la adición de baroprotectores como se ha demostrado para el caso de pasta de lenguado (Uresti y col., 2005b). El sorbitol (8-12%), sólo o en combinación con trehalosa o sacarosa, inhibe la agregación de la proteína, lo que se refleja en una disminución en los valores de las propiedades mecánicas de los geles formados por los tratamientos APH. El mecanismo para explicar este fenómeno no se entiende completamente pero al parecer los agentes baroprotectores como el sorbitol inhibirían la agregación de proteínas miofibrilares (Figura 7).

Otro efecto interesante que se puede obtener con APH es la modificación de las propiedades funcionales de la carne de calamar para permitir su gelificación por calor, la cual es prácticamente nula en condiciones normales de tratamiento térmico. Los tratamientos de presión superiores a 800 MPa podrían inactivar las proteasas relacionadas con la degradación de las proteínas del músculo del manto del calamar lo cual permitiría la gelificación térmica de la carne del calamar (Nagashima y col., 1993).

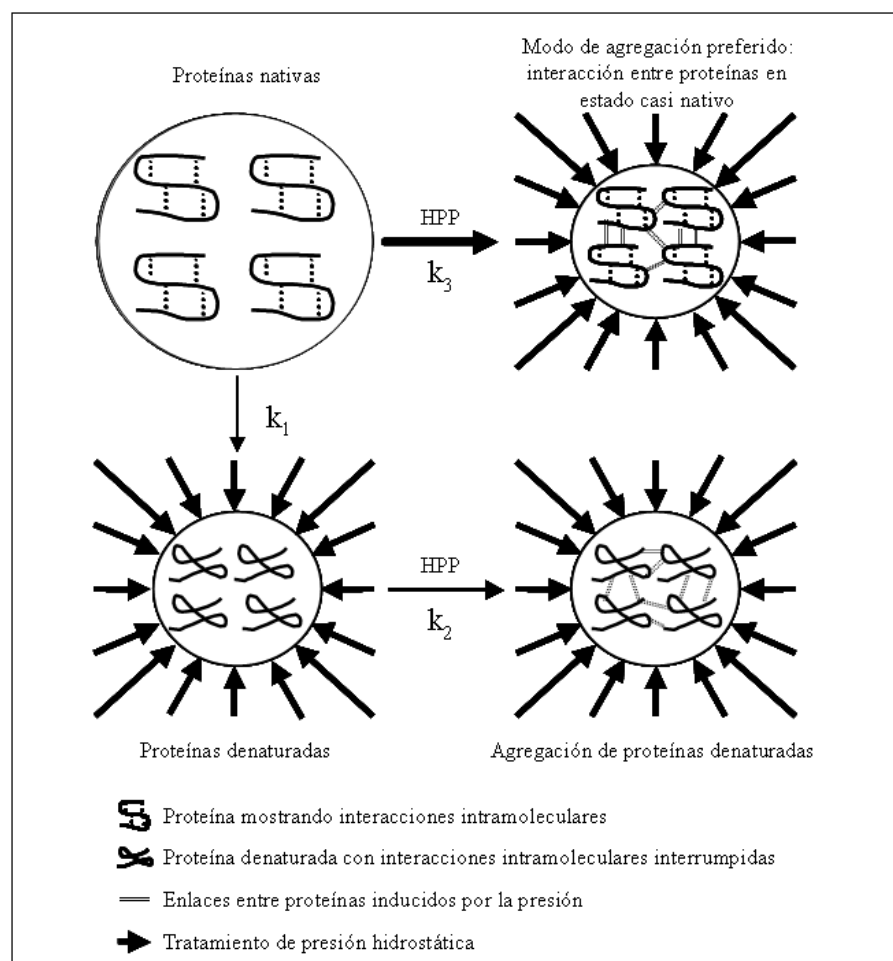


Figura 6. Mecanismo sugerido para los cambios en la estructura de proteínas inducidos tratamientos APH donde k_1 , k_2 y k_3 son constantes de reacción tales que $k_1 < k_2$ y $k_3 \gg (k_1 + k_2)$ (Adaptada de Uresti y col, 2005b).

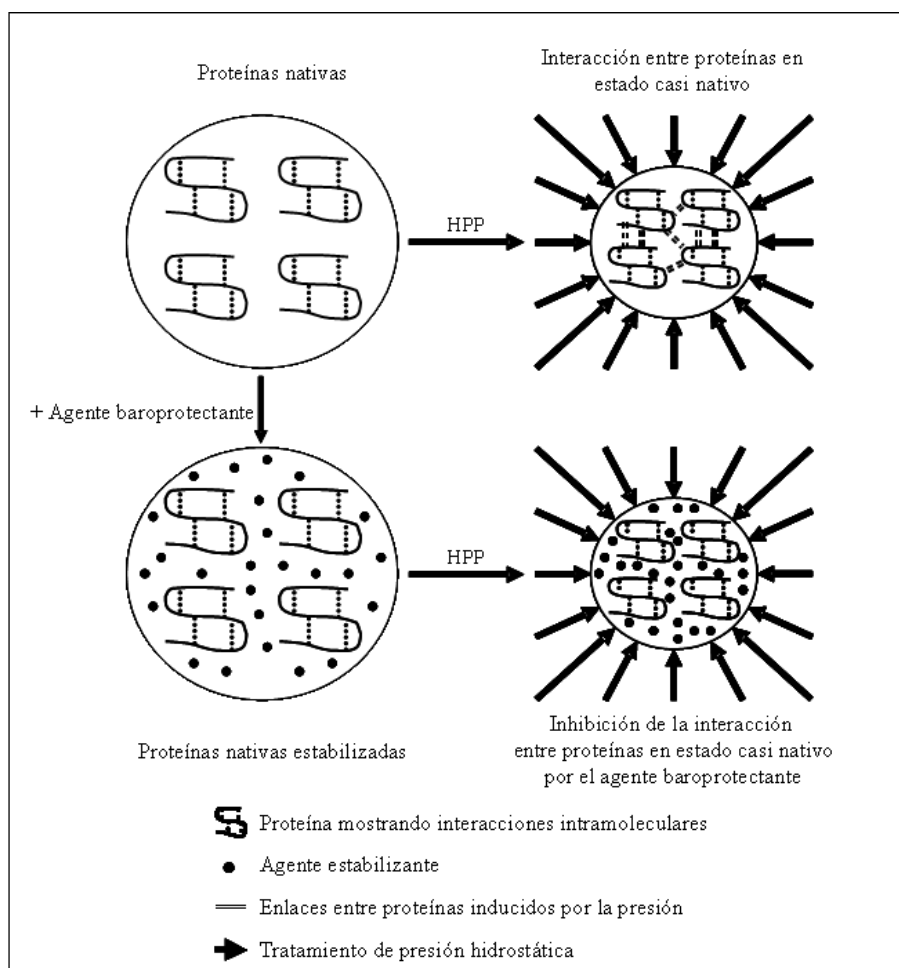


Figura 7. Mecanismo de estabilización de la estructura de las proteínas frente a los tratamientos APH por medio de azúcares y polioles (Adaptada de Uresti y col, 2005b).

Productos termolábiles de alto valor agregado

Los compuestos funcionales o biológicamente activos se han convertido en un mercado muy importante debido al creciente interés del consumidor. Las ventas de suplementos, alimentos funcionales, nutraceuticos y artículos naturales continúan expandiéndose, creando una

oportunidad de venta estimada en 42 mil millones de dólares a nivel mundial. La creciente desconfianza en la capacidad de la dieta para satisfacer todas nuestras necesidades nutricionales y el interés por mejorar nuestra calidad de vida física, son factores importantes que aseguran el crecimiento continuo en la demanda de estos productos. En 1994, el 70% de las mujeres creían que sus dietas cubrían sus demandas nutricionales, porcentaje que bajó al 46% en 2000. Al mismo tiempo, el porcentaje de personas que creen necesitar la adición de nutrientes a sus dietas incrementó de 54% en 1994 a 70% en 2000 (Multi-Sponsor Surveys 2001, Princeton, NJ). La tecnología APH es capaz de responder al reto de lograr productos de origen acuático para este mercado con carga microbiana baja, libre de patógenos y sin alterar la actividad biológica de los compuestos funcionales.

CONCLUSIONES

Avances recientes en la tecnología de fabricación de equipos, la exitosa comercialización de los productos APH refrigerados y la demanda del consumidor de alimentos mínimamente procesados, inocuos y de alta calidad, han creado un interés considerable en la tecnología del procesado por alta presión. Una búsqueda en las bases de datos dió como resultado ~100 investigaciones publicadas en la década de 1980, cerca de 2000 en la de 1990 y más de 1000 desde el año 2000. Estos trabajos brindan una plataforma de apoyo a esta tecnología emergente y ayudarán a la creación de nuevas empresas de procesado de alimentos por alta presión.

En este capítulo se han mostrado diversos ejemplos de productos procesados por alta presión que se comercializan actualmente y otros que representan nuevas oportunidades. Si bien la tecnología APH tiene bajos costes de operación, es necesario capacitar al personal para asegurar que estos costes sean mínimos. Un ejemplo son los sellos de alta presión que

deben ser mantenidos apropiadamente para reducir costes de operación y, sobre todo, para prevenir interrupciones en la operación de la planta. Otra consideración importante es la cuidadosa separación de los productos tratados y por tratar, ya que a simple vista es muy difícil distinguirlos. Un error de este tipo causaría grave daño a la confianza del consumidor en esta innovadora tecnología.

Es importante mencionar que la adopción de una tecnología innovadora depende de los beneficios al consumidor, las ventajas que represente para el productor y también de la situación general de la economía. Keith Long, de la firma de inversionistas Otter Creek Partners, expresó en 2003 que APH es una tecnología prometedora, pues hay en ella una gran potencialidad, aunque permanece la pregunta fundamental de como comercializarla dentro de una situación económica en la que los inversionistas se han mostrado renuentes a proveer los recursos necesarios debido a la situación económica mundial de los últimos años.

El futuro de la tecnología APH depende de la capacidad del empresario para manejar el riesgo de invertir en un negocio nuevo, y también del éxito de los fabricantes de equipos para solucionar una serie de retos tecnológicos y obtener equipos con bajos costes de operación, de alta confiabilidad y con nuevas capacidades tecnológicas. En este sentido el futuro es prometedor, pues la nueva generación de equipos permitirá procesos de presión a temperaturas elevadas, con lo que se espera lograr la inactivación de esporas bacterianas y la producción de alimentos estables a temperatura ambiente.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el “Plan Nacional de I+D+I del Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) mediante el proyecto AGL2006-08250.

REFERENCIAS

- Anónimo. (1999). Developments in high pressure processing. *Food Reviews* 26(7), 13-4.
- Anónimo. (2000). Staying fresh under pressure. *Food Quality* 7(3), 50, 52.
- Balny, C. & Masson, P. (1993). Effects of high pressure on proteins. *Food Reviews International* 9, 611-628
- Berlin, D.L., Herson, D.S., Hicks, D.T. y Hoover, D.G. (1999). Response of pathogenic *Vibrio* species to high hydrostatic pressure. *Applied Environmental Microbiology* 65, 2776-80.
- Bridgman, P.W. (1914). The coagulation of albumen by pressure. *Journal of Biological Chemistry* 19(1), 511-2.
- Calci, K. R.; Meade, G. K.; Tezloff, R. C.; Kingsley, D. H. (2005). High-Pressure Inactivation of Hepatitis A Virus within Oysters. *Applied and environmental microbiology*. 71(1) 339-343.
- Capellas, M., Mor-Mur, M., Gervilla, R., Yuste, J. & Guamis, B. (2000). Effect of high pressure combined with mild heat or nisin on inoculated bacteria and mesophiles of goat's milk fresh cheese. *Food Microbiology* 17, 633-641.
- Casadei, M.A., Manas, P., Niven, G., Needs, E. & Mackey, B.M. (2002). Role of membrane fluidity in pressure resistance of *Escherichia coli* NCTC 8164. *Applied Environmental Microbiology* 68, 5965-5672.
- Cheftel, J.C. (1995). High pressure, microbial inactivation and food preservation. *Comptes Rendus de l'Academie d'Agriculture de France* 81(1), 13-38.
- Culbert, L. 2008. Oyster death prompts lawsuit. News Channel 5, www.kalb.com, consulted February 24, 2008.
- Funtenberger, S., Dumay, E. & Cheftel, J.C. (1997). High pressure promotes ?-lactoglobulin aggregation through SH/S-S interchange reactions. *Journal of Agriculture & Food Chemistry* 45, 912-921.

- Galazka, V.B. & Ledward, D.A. (1996). Effects of high pressure on protein-polysaccharide interactions. In *Macromolecular Interactions in Food Technology*. N. Parris, A. Kato, L.K. Creamer and J. Pearce (Eds). American Chemical Society, Washington. pp. 113-123.
- Hawley, S.A. (1971). Reversible pressure-temperature denaturation of chymotrypsinogen. *Biochemistry* 10, 2436-2442.
- Heinitz, M.L. y Johnson, J.M. (1998). The incidence of *Listeria spp.*, *Salmonella spp.* and *Clostridium botulinum* in smoked fish and shellfish. *Journal Food Protection* 61, 318-23.
- Heremans, K. & Wong, P.T.T. (1985). Pressure effects on the Raman spectra of proteins, Pressure induced changes in the conformation of lysozyme in aqueous solutions. *Chemical Physics Letters* 118, 101-14.
- Hite, B.H. 1899. The effects of pressure in the preservation of milk. *Bulletin West Virginia University Agricultural Experiment Station, Morgantown* 58, 15-35.
- Kingsley, D.H., Hoover, D.G., Papafragkou, E., Richards, G.P. (2002). Inactivation of hepatitis A virus and a calicivirus by high hydrostatic pressure. *Journal of Food Protection* 65(10), 1605-1609.
- Knorr, D. (1993). Effects of high-hydrostatic-pressure processes on food safety and quality. *Food Technology* 47(6), 156, 158-161
- Meyer, R.S., Cooper, K.L., Knorr, D. & Lelieveld, H.L.M. (2000). High-pressure sterilization of foods. *Food Technology* 54(11), 67, 68, 70, 72.
- Morrissey, M. (2003). Interviewed published December 1 by FSNET, Director of Oregon's Seafood Laboratory, Astoria, OR.
- Mozhaev, V., Heremans, K., Frank, J., Masson, P. & Balny, C. (1996). High Pressure effects on protein structure and function. *Proteins, Structure, Function and Genetics* 24, 81-91.

- Noma, S., Tomita, C., Shimoda, M. & Hayakawa, I. (2004). Response of *Echerichia coli* O157:H7 in apple and orange juices by hydrostatic pressure treatment with rapid decompression. *Food Microbiology* 21, 469-473.
- Oliveira, A.C., Ishimaru, D., Gonçalves, R.B., Smith, T.J., Mason P., Sá-Carvalho, D. y Silva J. L. (1999). Low temperature and pressure stability of picornaviruses: Implications for virus uncoating, *Biophysical Journal* 76, 1270–1279.
- Olsen, S.J., MacKinnon, L.C., Goulding, J.S., Bean, N.H. & Slutsker, L. (2000). Surveillance for foodborne disease outbreaks in the United States, 1993-1997. Division of Bacterial and Mycotic Diseases, National Center for Infectious Diseases 49(SS01), 1-51.
- Paidhungat, M., Setlow, B., Daniels, W.B., Hoover, D., Papafragkou, E. & Setlow, P. (2002). Mechanisms of induction of germination of *Bacillus subtilis* spores by high pressure. *Applied Environmental Microbiology* 68, 3172-3175.
- Paredes-Sabja D., Torres J.A., Setlow P., Sarker M.R. 2007a. Clostridium perfringens spore germination: characterization of germinants and their receptors. *Journal of Bacteriology* (available on line).
- Reddy, N.R., Solomon, H.M., Fingerhut, G.A., Rhodhamel, E.J., Balasubramaniam, V.M. & Palaniappan, S. (1999). Inactivation of *Clostridium botulinum* type E spores by high pressure processing. *Journal of Food Safety* 4, 277-288.
- Rogers, N. (1999). High pressure processing. It's time for action. *Food Manufacture* 74(5), 34-6.
- Sangsuk, Oh & Myoung, J. (2003). Inactivation of *Bacillus cereus* spores by high hydrostatic pressure at different temperatures. *Journal of Food Protection* 66, 599-603.
- Sarker, M.R., Shivers, R.P., Sparks, S.G., Juneja, V.K. & McClane, B.A. (2000). Comparative experiments to examine the effects of heating

- on vegetative cells and spores of *Clostridium perfringens* isolates carrying plasmid genes versus chromosomal enterotoxin genes. *Applied & Environmental Microbiology* 66, 3234-3240.
- Setlow, B. & Setlow, P. (1995). Small, acid-soluble proteins bound to DNA protect *Bacillus subtilis* spores from killing by dry heat. *Applied & Environmental Microbiology* 61, 2787-2790.
- Shearer, A.E.H., Dunne, C.P., Sikes, A. & Hoover, D.G. (2000). Bacterial spore inhibition and inactivation in foods by pressure, chemical preservatives and mild heat. *Journal of Food Protection* 63, 1503-1510.
- Stewart, C.M., Dunne, C.P., Sikes, A. & Hoover, D.G. (2000). Sensitivity of spores of *Bacillus subtilis* and *Clostridium sporogenes* PA 3679 to combinations of high hydrostatic pressure and other processing parameters. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 1(1), 49-56.
- Torres, J.A. & Ríos, R.A. 2006. Alta presión hidrostática: Una tecnología que irrumpirá en Chile. *Agro Económico* (Febrero): 40-43.
- Torres, J.A. & Velazquez, G. 2004. Commercial opportunities & research challenges in the high pressure processing of foods. *Journal of Food Engineering*, 67, 95-112.
- Ulmer, H.M., Gaenzle, M.G. & Vogel, R.F. (2000). Effects of high pressure on survival and metabolic activity of *Lactobacillus plantarum* TW1.460. *Applied Environmental Microbiology* 66, 3966-3973.
- Uresti, R. M., Velazquez, G., Ramírez, J. A., Vázquez, M., Torres, J. A. (2004). Effect of high pressure treatments on mechanical and functional properties of restructured products from arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84(13), 1741-1749.
- Uresti, R. M., Velazquez, G., Vázquez, M., Ramírez, J. A., Torres, J. A. (2005a). Restructured products from arrowtooth flounder

- (*Atheresthes stomias*) using high pressure treatments. European Food Research and Technology 220(2), 113-119.
- Uresti, R. M., Velazquez, G., Vázquez, M., Ramírez, J. A., Torres, J. A. (2005b). Effect of sugars and polyols on the functional and mechanical properties of pressure-treated arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*) proteins. Revista: Food Hydrocolloids, 19(6), 964-973.
- Uresti, R. M., Velazquez, G., Vázquez, M., Ramírez, J. A., Torres, J. A. (2006). Effects of combining microbial transglutaminase and high pressure processing treatments on the mechanical properties of heat induced gels prepared from arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*). Food Chemistry 94(2), 202-209.
- Vázquez-Landaverde PA, Qian MC, Torres JA. 2007. Kinetic analysis of volatile formation in milk subjected to pressure-assisted thermal treatments. Journal of Food Science 72: E389-E398.
- Velazquez, G., Gandhi, K. & Torres, J.A. (2002). Hydrostatic pressure processing: a review. Biotam 12(2), 71-78.
- Velazquez, G., Vázquez, P., Vázquez, M., Torres J. A. (2005a) Aplicaciones del procesado de alimentos por alta presión. Ciencia y Tecnología Alimentaria 4(5), 343-352.
- Velazquez, G., Vázquez, P., Vázquez, M., Torres J. A. (2005b) Avances en el procesado de alimentos por alta presión. Ciencia y Tecnología Alimentaria 4(5), 353-367.
- Wilkinson, N., Kurdziel, A.S., Langton, S., Needs, E. yCook. N. (2001) Resistance of poliovirus to inactivation by hydrostatic pressures, Innovative Food Science and Emerging Technologies 2, 95–98.
- Wong, P.T.T. & Heremans, K. (1988). Pressure effects on protein secondary structure and hydrogen deuterium exchange in chymotrypsinogen, a Fourier transform infrared spectroscopic study. Biochemistry et Biophysics Acta 956, 1-9.

ALTAS PRESIONES Y CONGELACIÓN DE ALIMENTOS

Sanz*, P.D, Otero, L., Guignon, B. y Aparicio, C.

Instituto del Frío (CSIC). MALTA CONSOLIDER TEAM. Ciudad
Universitaria. 28040. Madrid.

*correo electrónico: psanz @if.csic.es

Resumen

Uno de los procesos más antiguos y más empleados para preservar los alimentos es la congelación. La bajas temperaturas, lo que hacen en general, es relentizar las reacciones químicas que se producen, de una forma natural en los alimentos y hacen que se conserven durante más tiempo sin alterar mucho sus cualidades originales. Por otra parte, el empleo de altas presiones junto con la aplicación de bajas temperaturas abre nuevas perspectivas en el campo de Tecnología de Alimentos. En este trabajo se presentan distintos tratamientos para la conservación: almacenamiento de alimentos a temperaturas por debajo de 0°C sin congelar, congelación y descongelación con altas presiones y se presenta una modelización matemática de la fase de preenfriamiento de un modelo de alimento para ser congelado por cambio brusco de presión.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos prehistóricos, el hombre ha venido desarrollando distintos sistemas para conservar los alimentos. Primero usó ceniza, miel y sal para evitar el deterioro de las bayas y raíces. Más tarde, aprendió a utilizar la desecación y el ahumado, así como la nieve y el frío del interior de las cavernas para guardar los alimentos y consumirlos en épocas de escasez. Desde entonces, la conservación a bajas temperaturas ha ido evolucionando constantemente. En las últimas décadas, gracias al avance de la tecnología, se ha considerado una nueva posibilidad utilizable en la conservación de alimentos: el uso combinado de altas presiones y bajas temperaturas.

El agua sólida o hielo es polimorfo. Las diferentes estructuras conocidas son estables en determinados intervalos de temperatura y

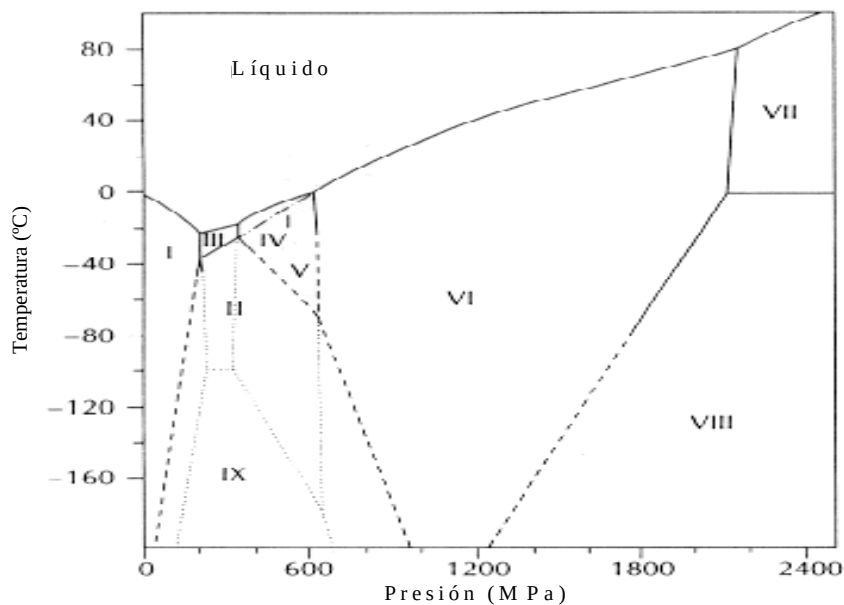


Figura 1. Diagrama de fases sólido-líquido del agua en función de la presión y la temperatura (Tomada de Kalichevsky y col., 1995).

presión, tal y como muestra la Figura 1, tomada de Kalichevsky y col., 1995. En 1903 se descubrió la existencia de dos nuevas formas de hielo (hielo II y III) diferentes del entonces hielo conocido, hielo I. Más tarde, en 1910 sugirió la probable existencia del discutido hielo IV (2). Bridgman, 1912, localizó las regiones de estabilidad de cada uno de estos tipos de hielo y definió las curvas de cambio de fase y el calor latente correspondiente. Asimismo, halló dos nuevas formas de hielo: hielo V y hielo VI y posteriormente definió las coordenadas de presión y temperatura donde coexisten la fase líquida del agua, el hielo VI y el hielo VII. El hielo VIII y el hielo IX fueron descritos por primera vez por Whalley y Heath, 1966. Wagner y col., 1994, a partir de todos los datos experimentales recopilados desde 1912 por distintos autores obtuvieron cinco ecuaciones que definen las curvas de cambio de fase entre los hielos I, III, V, VI y VII y la fase líquida. El anuncio del descubrimiento de la última estructura de hielo, la duodécima en la familia, ha sido en 1998, por investigadores del University College de Londres y de la Universidad de Karlsruhe (Alemania).

El agua es una sustancia anómala. Así, como se observa en el diagrama de fases de la Figura 1, la temperatura necesaria para pasar de hielo I a líquido disminuye cuando se aumenta la presión al contrario de lo que ocurre en la mayoría de las sustancias. Ello se explica si se tiene en cuenta que el agua disminuye de volumen al pasar de hielo I a líquido. Al aumentar la presión se debilita la estructura cristalina del hielo y así se necesita menos temperatura para el cambio de fase, pues parte del trabajo necesario para alcanzar la estructura del agua líquida ha sido ya ejercido por la presión. La aplicación de presión conduce a una disminución de la temperatura de fusión hasta las coordenadas $p = 209.9 \text{ MPa}$ y $T = -21.995^\circ\text{C}$, punto triple donde se encuentran el agua líquida y los hielos I y III. A partir de este punto se observa una pendiente positiva en la curva de fusión para los hielos III y V.

El empleo de altas presiones permite el desplazamiento a lo largo del diagrama de fases del agua. Ello abre nuevas posibilidades desde el punto de vista de conservación de alimentos: conservación en estado no congelado a temperaturas por debajo de 0°C, descongelación y congelación con alta presión.

CONSERVACIÓN EN ESTADO NO CONGELADO A TEMPERATURAS NEGATIVAS

Gracias a la disminución que experimenta el punto de fusión del hielo I con la presión es posible conservar a temperaturas negativas y altas presiones un producto sin congelar. La Figura 2 muestra una representación esquemática del proceso. El alimento a conservar se introduce en el recinto de altas presiones y rápidamente se realiza la compresión (tramo AB).

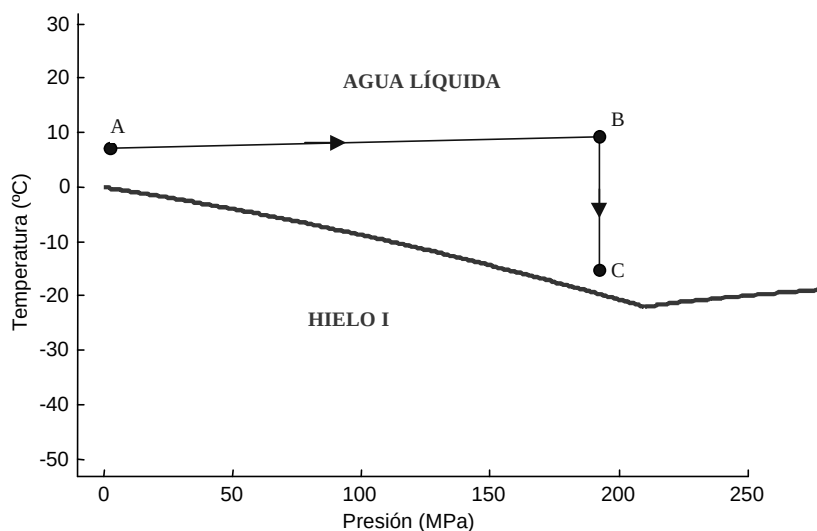


Figura 2. Representación esquemática de la conservación a temperaturas negativas sin congelar.

A continuación, se enfría el producto bajo presión permaneciendo, en todo momento, en estado líquido, tal y como muestra el diagrama de

fases del agua superpuesto en rojo en la figura. Así permanece el tiempo de conservación que sea necesario. Es importante destacar que mantener el alimento bajo presión a lo largo del tiempo no supone un aporte de energía adicional al necesario para mantenerlo a baja temperatura. En el momento en que se desee emplear el alimento, la ruta para pasar a presión atmosférica es la inversa (CBA). Así, ha de calentarse el producto hasta alcanzar una temperatura superior a 0° C y realizar entonces la expansión hasta presión atmosférica; ya que, si se realizase la expansión con el producto a temperatura negativa directamente (desde el punto C de la figura), éste se congelaría.

Deuchi y Hayashi, 1995, realizaron experimentos de conservación de frutas y carnes frescas sin congelar a temperaturas de -5 a -20°C y presiones de 50 a 200 MPa durante semanas. Estos autores demostraron que la utilización de presiones moderadas a temperaturas menores de 0°C permite conservar en los alimentos sus características naturales a la vez que se evitan las alteraciones microbianas y los daños característicos de la congelación.

DESCONGELACIÓN CON ALTA PRESIÓN

El proceso de descongelación con alta presión (Figura 3) supone introducir el producto congelado en el recinto de alta presión atemperado a más de 0°C y realizar la compresión hasta la presión programada (tramo AB). La descongelación se produce, entonces, a la temperatura de cambio de fase correspondiente (menor de 0°C), punto B. Una vez concluida ésta, la temperatura de la muestra se eleva hasta igualar la del recinto de alta presión (punto C). A continuación se realiza la expansión (tramo CD) y se tiene el producto descongelado a presión atmosférica.

Takai y col., 1991, realizaron descongelaciones con alta presión en atún y *surimi* congelados. Estos autores señalaron que los tiempos de descongelación bajo presión disminuían considerablemente en relación a los correspondientes a presión atmosférica, pero que debido a las altas presiones empleadas se producían desnaturalizaciones en las proteínas que provocaban cambios de color en los productos. Además la textura de los mismos se hacía más dura. Murakami y col., 1992, realizaron también experimentos de descongelación con alta presión en atún congelado. Estos investigadores corroboraron las observaciones de Takai y col., 1991, y además, señalaron la existencia de una disminución en los exudados producidos tras la descongelación a alta presión en comparación con descongelaciones en similares condiciones a presión atmosférica. Por otra parte, Deuchi y Hayashi, 1992, destacaron que es posible descongelar carne a alta presión sin cambios apreciables de color si se seleccionan adecuadamente las condiciones de presión, tiempo y temperatura.

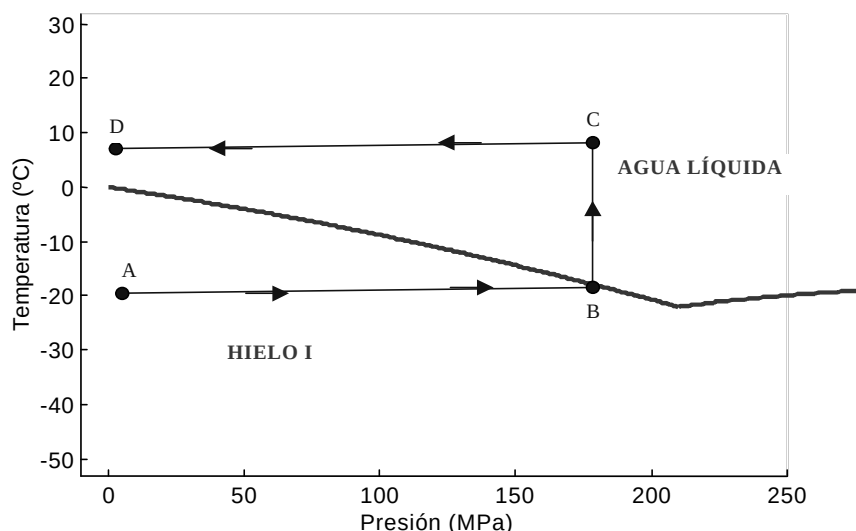


Figura 3. Representación esquemática del proceso de descongelación por alta presión.

CONGELACIÓN CON ALTA PRESIÓN

Dentro de la congelación con alta presión se engloban dos procesos muy distintos (Lévy y col., 1999) en esencia que, a menudo, en la bibliografía se confunden: las congelaciones asistidas por presión y las congelaciones por cambio brusco de presión.

Congelaciones asistidas por presión

Son aquellas congelaciones en las que el cambio de fase se produce en su totalidad a una presión constante y mayor que la atmosférica. De este modo se puede conseguir hielo I o bien otros tipos de hielo de menor volumen específico (hielo III, hielo V...) que; en principio, cabe pensar que producirían menores daños en los tejidos que el hielo I.

La Figura 4 muestra una congelación asistida por presión con hielo I. El alimento se introduce en el recinto de alta presión, previamente atemperado a la temperatura de trabajo (menor que 0°C), y se realiza la compresión hasta la presión programada (tramo AB). A continuación, el producto se enfría hasta alcanzar en su superficie el subenfriamiento necesario para iniciar la nucleación bajo presión. Se produce entonces el cambio de fase (punto C) en la parte más externa de la muestra y los cristales de hielo van creciendo, con forma dendrítica, hasta el centro térmico del producto a una velocidad proporcional a la de extracción de calor por el sistema de refrigeración. Una vez que se completa el cambio de fase en todo el volumen de la muestra continúa bajando la temperatura hasta igualarse con la del medio (punto D). Entonces se realiza la expansión con el producto ya congelado (tramo DE) hasta presión atmosférica.

Entre las ventajas de la congelación asistida por alta presión con hielo I cabe citar la reducción en los tiempos de congelación que es posible conseguir, Knorr y col., 1998, ya que, el calor latente que es necesario eliminar es menor cuando aumenta la presión Hobbs, 1974. Sin embargo,

hay que tener en cuenta también que cuando el proceso de congelación tiene lugar bajo presión el gradiente de temperatura que se establece entre el medio de refrigeración y la muestra a congelar es menor (debido a la disminución de su punto de fusión) y; por tanto, la extracción de calor se ralentiza. Además, hay que destacar que, para iniciar la nucleación bajo presión es necesario un mayor subenfriamiento que el necesario a presión atmosférica.

En cuanto a la calidad final del producto congelado (Fuchigami y col., 1996a, 1996b, 1997a, 1997b, 1997c, 1998a, 1998b, 1998c) realizaron congelaciones asistidas por presión con hielo I en tofu, zanahoria, col china y gel de ágar y comprobaron que los daños histológicos y la textura final de estos productos eran similares a los que se producían en congelaciones a presión atmosférica; ya que, la forma (dendrítica) y el tipo de hielo (hielo I) eran iguales en ambos tipos de congelación. Así, no encontraron mejoras apreciables en la calidad de los productos estudiados con este tipo de congelación asistida por presión con hielo I.

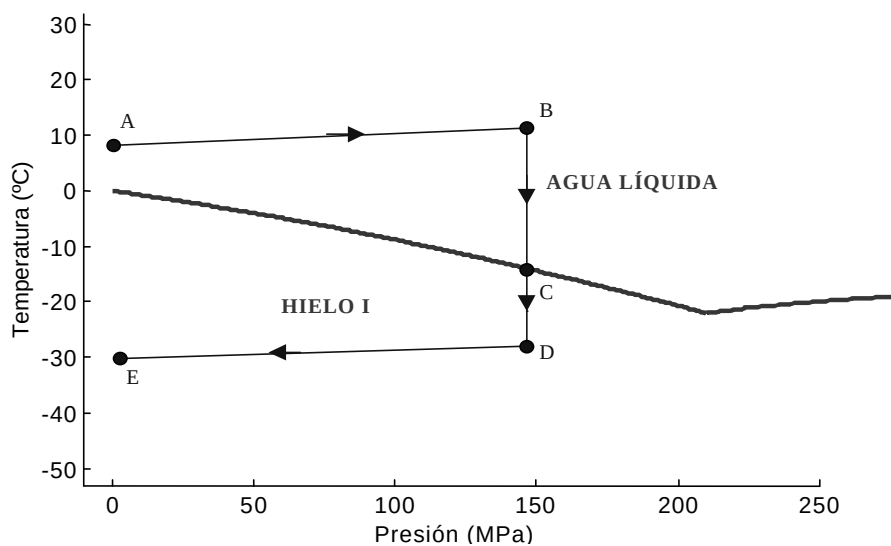


Figura 4: Representación esquemática del proceso de congelación asistida por presión con hielo I

Como ya se ha mencionado, la congelación asistida por presión también permite obtener formas de hielo diferentes al hielo I. La Figura 5 muestra una congelación asistida por presión con hielo III. El proceso es similar al descrito para una congelación asistida por presión con hielo I. La diferencia está en las coordenadas de presión y temperatura que se programan, que han de estar en la zona de hielo III del diagrama de fases del agua.

Fuchigami y col., 1996a, 1996b, 1997a, 1997b, 1997c, 1998a, 1998b, 1998c, realizaron congelaciones asistidas con presión con hielo III, hielo V y hielo VI en tofu, zanahoria, col china y gel de ágar. Estos autores comprobaron que las congelaciones con hielo III y hielo V ocasionaban menos daños histológicos y de textura que las que se hacían con hielo I. Los productos así congelados eran mejores que los congelados con hielo I a presión atmosférica pero; aún así, no eran idénticos al producto fresco. Estos investigadores demostraron que ello se debía a que parte de las ventajas de obtener hielos de menor volumen específico que el hielo I se perdían cuando se llevaba el producto congelado a presión a atmosférica; ya que, en la expansión, se producían las transiciones de fase hielo VI-hielo V-hielo III-líquido-hielo I.

Por última, una alternativa interesante a destacar que abre la congelación asistida por presión es la congelación con hielo VI sin necesidad de frío; ya que, a 900 MPa el agua cristaliza a hielo VI a temperatura ambiente.

Congelación por cambio brusco de presión

Son aquellas congelaciones en las que el cambio de fase viene provocado por un cambio de presión brusco.

La Figura 6 muestra una representación esquemática del proceso. El producto a congelar se introduce en el recinto de alta presión, previamente atemperado a la temperatura de trabajo (menor de 0°C) y se realiza una compresión hasta la presión programada (tramo AB). A continuación, se enfría la muestra bajo presión permaneciendo, en todo momento, en estado líquido (tramo BC) como se observa en el diagrama de fases del agua superpuesto en la figura. Una vez conseguida la temperatura deseada en todo el volumen del producto, se realiza una expansión adiabática hasta presión atmosférica que provoca una bajada en la temperatura de la muestra (tramo CD). El punto D supone un gran subenfriamiento a presión atmosférica que provoca una nucleación uniforme en todo el volumen del producto de pequeños cristales de hielo; ya que,

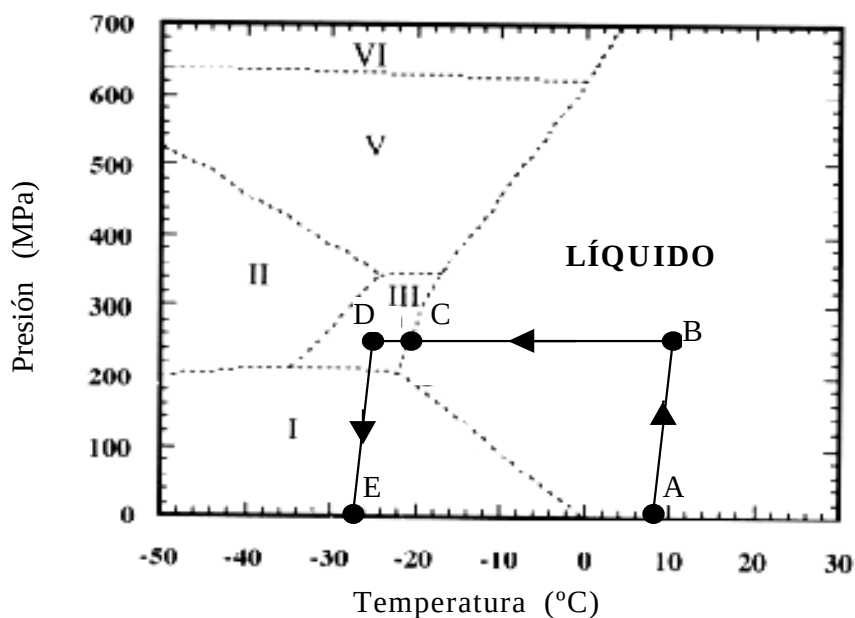


Figura 5. Representación esquemática de una congelación asistida por presión con hielo III

como señalaron Burke y col., 1975, la velocidad de nucleación se multiplica por diez por cada grado de subenfriamiento alcanzado. La congelación finaliza a presión atmosférica.

En la congelación por cambio brusco de presión un porcentaje del agua total de la muestra se congela instantáneamente y; por tanto, la duración del plato de congelación es menor que a presión atmosférica. Otero y col., 1997, 2000b, calcularon teóricamente el porcentaje de hielo que es posible obtener instantáneamente en la expansión. Su valor máximo es, según estos autores, de un 29.1% y se consigue para unas condiciones iniciales previas a la expansión de 209.9 MPa y -21.995°C . Este porcentaje disminuye a lo largo de la curva de fusión a medida que desciende la presión.

Así, la principal ventaja de la congelación por cambio brusco de presión es la cantidad de hielo que nuclea instantáneamente en todo el volumen de la muestra y da lugar a cristales de forma granular y pequeño tamaño homogéneamente distribuidos en el producto. Esto supone un importante avance en relación a los métodos tradicionales de congelación a presión atmosférica en los que los fenómenos de gradientes térmicos que se establecen permiten únicamente la nucleación de hielo en la superficie del alimento produciéndose finalmente estructuras dendríticas de hielo. Así, la congelación por cambio brusco de presión es particularmente interesante en alimentos de gran volumen en los que las lentas velocidades de congelación en el interior de los mismos incrementan el diámetro de los cristales de hielo con los consiguientes efectos negativos sobre la calidad final del congelado.

Dado que tras la expansión, la congelación por cambio brusco de presión se realiza a presión atmosférica, una mejora sustancial del proceso consistiría en extraer la muestra congelada del recinto de alta presión y finalizar la congelación con un método rápido; por ejemplo, congelación con

nitrógeno líquido, que agilice el proceso y evite los efectos dañinos de los gradientes térmicos que se establecen.

La calidad de los productos congelados por cambio brusco de presión se ve; en general, mejorada en relación a los congelados a presión atmosférica dado el menor tamaño de los cristales de hielo formados. Así, se han descrito claras mejoras en la microestructura de patata (Koch y col, 1996), zanahoria (Fuchigami y col., 1996a,1997a,1997b), col china (Fuchigami y col.,1998a), berenjena (Otero y col, 1998), melocotón y mango (Otero y col, 2000a), tofu (Fuchigami y col., 1996b, 1997c, 1998c; Kanda, 1992) o gel de ágar (Fuchigami y col., 1998b). Sin embargo, en productos de origen animal, los daños a nivel miofibrilar provocados por las altas presiones que se alcanzan en el proceso (Fernández-Martín y col., 2000) dañan la microestructura a pesar del reducido tamaño de los cristales de

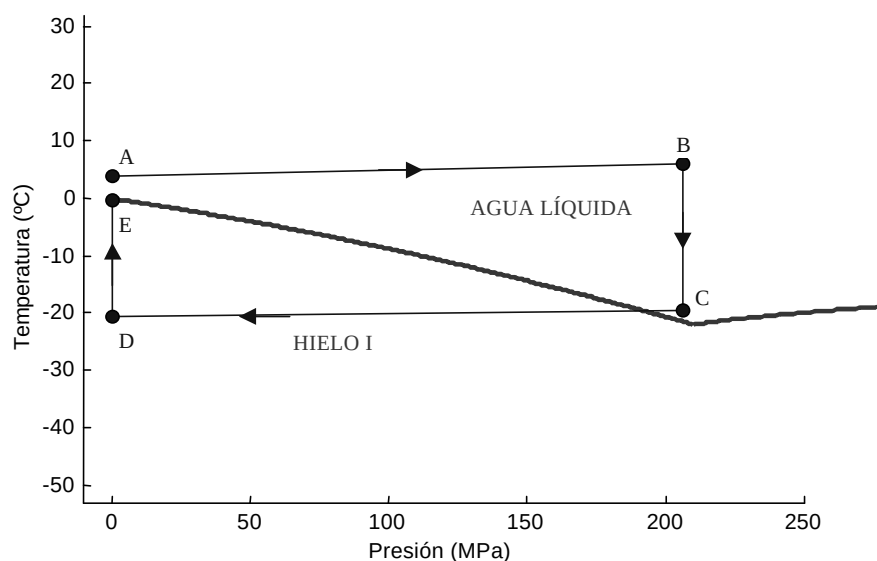


Figura 6. Representación esquemática de una congelación por cambio brusco de presión

hielo formados (Otero y col., 1997, 2000; Martino y col., 1998).

Por otra parte, la textura y el exudado de productos vegetales; en general, se ve mejorada (Fuchigami y col., 1996a, 1996b, 1997a, 1997b, 1997c, 1998a, 1998b, 1998c; Koch y col., 1996; Otero y col., 1988). En productos de origen animal, la capacidad de retención de agua y el color empeoran en relación a la congelación a presión atmosférica (Fernández-Martín y col., 2000; Massaux y col., 1998) debido a las desnaturalizaciones proteicas que se producen. Los efectos en la textura en estos alimentos dependen de la naturaleza del producto tratado (Fernández-Martín y col., 2000).

MODELIZACIÓN DE UN SISTEMA PARA CONGELAR POR CAMBIO BRUSCO DE PRESIÓN

Se pueden realizar modelizaciones matemáticas (Otero y col., 2007) para el diseño de la etapa de preenfriamiento de una hipotética instalación industrial que lleve a cabo la congelación por cambio brusco de presión. Dicha etapa de preenfriamiento podría corresponder a la transcurrida desde que se presuriza la muestra en la zona de líquido del correspondiente

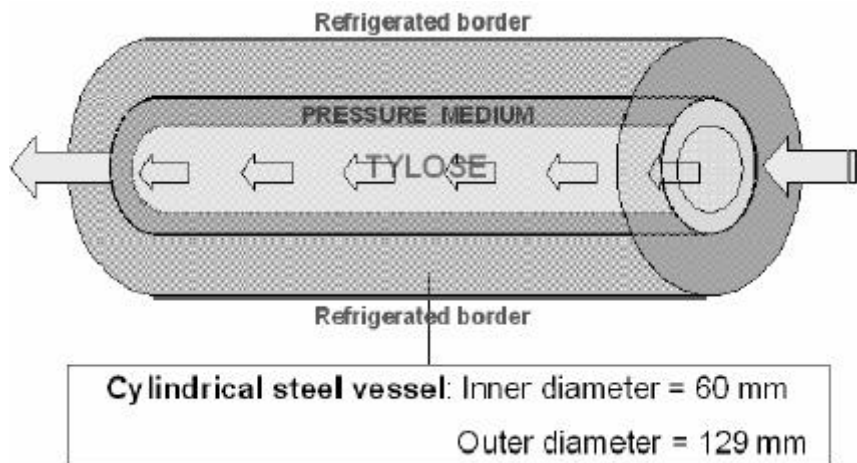


Figura 7.- Modelo tubular para realizar el preenfriamiento en una congelación por cambio brusco de presión

diagrama P, T de la muestra, hasta situarse incluso por debajo de la curva de fusión de la misma, aprovechando el estado de metaestabilidad del alimento. De este modo se consigue un mayor porcentaje de hielo instantáneo tras la expansión. Para llevar a cabo dicha modelización se puede pensar en utilizar un sistema a base de módulos tubulares (Figura 7) como los que existen en la industria de plásticos. Tras resolver el problema de transmisión de acoplado de calor y masa que presenta el modelo, se puede llegar a determinar la longitud que ha de tener el tubo para conseguir el preenfriamiento deseado según sea la velocidad con la que se mueve la muestra por el citado tubo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el “Plan Nacional de I+D+I del Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) mediante los proyectos CSIC 200550F0191, AGL2007-63314/ALI y MALTA CONSOLIDER-INGENIO 2010 CSD2007-00045. L. Otero tiene un contrato Ramón y Cajal, también del y B. Guignon y A. Aparicio tienen sendos contratos de la UE y del CSIC a través de Programa I3p.

REFERENCIAS

- Bridgman, P. W. (1912). Water, in the liquid and five solid forms, under pressure. *Proc. Am. Acad. Arts Sci.* XLVIII (13): 439-558.
- Burke M.J., George M.F., Bryant R.G. (1975). En: *Water Relations of Foods*. Food Science and Technology Monographs. Duckworth RB (ed.) Academic Press: 111-135.
- Deuchi, T., Hayashi, R. (1992). High pressure treatments at subzero temperature: application to preservation, rapid freezing and rapid thawing of foods. En: *High Pressure and Biotechnology*. Colloquies

- INSERM. Eds.: C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans & P. Masson. /John Libbey Eurotext Ltd., Montrouge, Francia. Vol. 224: 353-355.
- Fernández-Martín, F., Otero, L., Solas, M., Sanz, P.D. (2000). Protein denaturation and structural damage during high-pressure-shift freezing of porcine and bovine muscle. *Journal of Food Science*, 65 (6), 1002-1008.
- Fuchigami, M., Kato, N., Teramoto, A. (1996a). Effect of pressure-shift freezing on texture, pectic composition and histological structure of carrots. En: *High Pressure Bioscience and Biotechnology*. Eds.: R. Hayashi y C. Balny. Elsevier Science B.V.: 379-386.
- Fuchigami, M., Kato, N., Teramoto, A. (1997a). High-pressure-freezing effects on textural quality of carrots. *Journal of Food Science*, 62 (4): 804-808.
- Fuchigami, M., Kato, N., Teramoto, A. (1998a). High-pressure-freezing effects on textural quality of chinese cabbage. *Journal of Food Science*, 63 (1): 122-125.
- Fuchigami, M., Miyazaki, K., Kato, N., Teramoto, A. (1997b). Histological changes in high-pressure-frozen carrots. *Journal of Food Science*, 62 (4): 809-812.
- Fuchigami, M., Teramoto, A. (1996b). Texture and cryo-scanning electron micrographs of pressure-shift-frozen tofu. En: *High Pressure Bioscience and Biotechnology*. Eds.: R. Hayashi y C. Balny. Elsevier Science B.V.: 411-414.
- Fuchigami, M., Teramoto, A. (1997c). Structural and textural changes in kinu-tofu due to high-pressure-freezing. *Journal of Food Science*, 62 (4): 828-832 & 837.
- Fuchigami, M., Teramoto, A. (1998b). Effect of high-pressure-freezing on textural and structural quality of frozen agar gel. *Rev. High Pressure Sci. Technol.*, 7: 826-828.

- Fuchigami, M., Teramoto, A., Ogawa, N. (1998c). Structural and textural quality of kinu-tofu frozen-then-thawed at high pressure. *Journal of Food Science*, 63 (6): 1054-1057.
- Hobbs, P. V. (1974). *Ice Physics*. Clarendon Press, Oxford.
- Kalichevsky, M. T., Knorr, D. Y Lillford, P.J. (1995). Potential food applications of high-pressure effects on ice-water transition. *Trends in Food Science & Technology*, 6: 253-259.
- Kanda, Y., Aoki, M., Kosugi, T. (1992). Freezing of tofu (soybean curd) by pressure-shift freezing and its structure. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 39 (7): 608-614.
- Koch, H., Seyderhelm, I., Wille, P., Kalichevsky, M.T. Y Knorr, D. (1996). Pressure-shift freezing and its influence on texture, colour, microstructure and rehydration behaviour of potato cubes. *Nahrung*, 40 (2): 125-131.
- Knorr, D., Schlueter, O., Y Heinz, V. (1998). Impact of high hydrostatic pressure on phase transitions on foods. *Food Technology*, 52 (9): 42-45.
- Lévy, J., Dumay, E., Kolodziejczyk, E., Cheftel, J. C. (1999). Freezing kinetics of a model oil-in-water emulsion under high pressure or by pressure release. Impact on ice crystals and oil droplets. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 32: 396-405.
- Martino, M.N., Otero, L., Sanz, P.D., Zaritzky, N.E. (1998). Size and location of ice crystals in pork frozen by high pressure assisted freezing as compared to classical methods. *Meat Science*, 50 (3): 303-313.
- Massaux, C., Berá, F., Steyer, B., Sindic, M., Deroanne, C. (1998). High hydrostatic pressure freezing and thawing of pork meat: quality preservation, processing times and high pressure treatments advantages. En: *Abstracts of High Pressure Bioscience & Biotechnology*. IVth joint meeting of Japanese and European

- seminars on high pressure bioscience and biotechnology. Heidelberg. Alemania. p.86.
- Murakami, T., Kimura, I., Yamagishi, T., Yamashita, M., Sugimoto, M., Y Satake, M. (1992). Thawing of frozen fish by hydrostatic pressure. En: *High Pressure and Biotechnology*. Colloquies INSERM. Eds.: C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans & P. Masson. /John Libbey Eurotext Ltd., Montrouge, Francia. Vol. 224: 329-331.
- Otero, L., Martino, M.N., Sanz, P.D., Zaritzky, N.E. (1997). Histological analysis of ice crystals in pork frozen by liquid N₂ and high-pressure-assisted freezing. *Scanning*, 19 (3): 241-242.
- Otero, L., Martino, M., Zaritzky, N., Solas, M., Sanz, P.D. (2000a). Preservation of microstructure throughout the volume of peach and mango frozen by high-pressure-shift freezing. *Jornal of Food Science* 65 (3), 466-470.
- Otero, L., Ousegui, A., de Elvira, C., Urrutia Benet G., Le Bail A., Sanz, P.D., (2007) Modelling industrial scale High-Pressure-Low-Temperature processes: *Journal of Food Engineering*. 83 (2), 136-141.
- Otero, L., Sanz, P.D. (2000b) Instantaneous ice amount in high-pressure shift freezing processes. *Biotechnology progress*. 16, 1030-1036.
- Otero, L., Sanz, P.D., de Elvira, C., Carrasco, J.A. (1997). Modelling thermodynamic properties of water in the high-pressure-assisted freezing process. En: *High Pressure Research in the Biosciences and Biotechnology*, K. Heremans (Ed.) Leuven University Press, Leuven, Belgium: 347-350.
- Otero, L., Solas, M., Sanz, P.D., De Elvira, C., Carrasco, J.A. (1998). Contrasting Effects of High-Pressure-Assisted Freezing and Conventional Air Freezing on Eggplants Tissue Microstructure. *Lebensmittel-Untersuchung und Forschung (A)*, **206** (5): 338-342.
- Takai, R., Kozhima, T.T., Suzuki, T. (1991). Low temperature thawing by using high-pressure. En: *Les Actes du XVIIIeme Congrès*

International du Froid, Montreal, Québec, Vol. 4. Intl. Inst. of Refrigeration. Paris, Francia:1951-1955.

Wagner, W., Saul, A. , Pruß, A. (1994). International equations for the pressure along the melting and along the sublimation curve of ordinary water substance. J. Phys. Chem. Ref. Data., 23 (3), 515-525.

Whalley, E., Heath, J.B.R. (1966). Dielectric properties of ice VII, ice VIII: A new phase of ice. J. Chem. Phys., 45: 3976-3982.

APLICACIÓN DE PULSOS ELÉCTRICOS DE ALTA INTENSIDAD DE CAMPO EN ZUMOS

Elez Martínez, P.; Soliva Fortuny, R.; Martín Belloso, O.*

Departamento de Tecnología de Alimentos

Universidad de Lleida

Av. Alcalde Rovira Roure, 191. 25198 Lleida (España)

*Correo electrónico: omartin@tecal.udl.es

Resumen

La aplicación de pulsos eléctricos de alta intensidad de campo (PEAIC) es una tecnología no térmica que puede evitar las incidencias negativas que produce el calor en los alimentos. En los últimos años, la investigación sobre la aplicación de PEAIC en los zumos de fruta está siendo muy intensa. Al aplicar PEAIC, se consigue garantizar la seguridad microbiológica de los zumos así como el retraso de su alteración. Las enzimas presentan comportamientos más dispares que los microorganismos, detectándose inactivaciones muy elevadas en algunos casos y prácticamente nula en otros. Además, se han ampliado los estudios a las características organolépticas y físico-químicas así como a los componentes bioactivos de los zumos, observándose mejoras con respecto al tratamiento térmico tradicional. También se han detectado beneficios de la aplicación de PEAIC respecto a los tratamientos térmicos en cuanto al mantenimiento de las propiedades organolépticas y nutricionales durante el almacenamiento de los zumos. No obstante, en algunas ocasiones el tratamiento con PEAIC no es suficiente para estabilizar estos productos, por lo que también se está estudiando la combinación de tecnologías para alargar su vida útil.

INTRODUCCIÓN

El procesado mediante pulsos eléctricos de alta intensidad de campo (PEAIC) es una tecnología no térmica de conservación de alimentos que está siendo estudiada en los últimos años como una alternativa o complemento a los tratamientos térmicos. Ésta técnica consiste en aplicar pulsos eléctricos de alta intensidad (kV/cm) durante un periodo de tiempo muy corto (μ s) a temperaturas bajas o moderadas. Los niveles de inactivación conseguidos en microorganismos patógenos y alteradores junto con el mínimo impacto que ocasionan en su calidad y propiedades nutricionales, sugieren que es posible obtener alimentos seguros de alta calidad con una vida útil aceptable mediante el procesado con PEAIC.

La utilización de electricidad para estabilizar alimentos es muy antigua aunque, inicialmente, se aplicaba para aumentar la temperatura y conseguir así su pasteurización. Esta técnica se utilizó para tratar zumo de uva (Tracy, 1932) y pasteurizar leche (Moses, 1938). Sin embargo, quedó prácticamente en el olvido en la década de los 40 (Palaniappan y Sastry, 1991; Martín y col., 1994).

En los años 50, surgió un tratamiento denominado "tratamiento electrohidráulico", el cual consistía en aplicar descargas de alta intensidad de campo y provocar la formación de un arco eléctrico, produciéndose así, la destrucción de microorganismos y enzimas, pero, al mismo tiempo, aparecían productos de electrólisis. Además, esta técnica producía cambios en la composición de los alimentos y un gran calentamiento de los mismos (Palaniappan y Sastry, 1991).

Fue en 1967, cuando Sale y Hamilton aplicando la electricidad en forma de pulsos demostraron que el efecto producido en los microorganismos era debido a la electricidad y no a la electrólisis ni al calor, puesto que los tratamientos no se realizaron a temperaturas elevadas.

Pero ha sido desde finales del siglo XX, cuando se están realizando más estudios para conseguir mejorar esta técnica de conservación de alimentos, y se han patentado varios sistemas de aplicación de PEAIC (Bushnell y col., 1993; Zhang y col., 1996; Yin y col., 1997). En este periodo de tiempo se han conseguido buenos resultados en la inactivación de microorganismos y enzimas así como en una modificación mínima de las propiedades nutricionales y sensoriales de los alimentos (Bendicho y col., 2002a; Espachs-Barroso y col., 2003; Martín-Belloso y col., 2005; Martín-Belloso y Elez-Martínez, 2005ab). Estas prometedoras evidencias han provocado que la industria alimentaria esté mostrando interés en la tecnología de PEAIC para la conservación de alimentos y su futura aplicación industrial (Espachs-Barroso y col., 2003). En la actualidad, los zumos más estudiados son los de naranja, manzana, uva y tomate.

Distintos autores han evaluado el efecto del tratamiento mediante PEAIC sobre los microorganismos inoculados en zumos y han llegado a la conclusión de que la inactivación microbiana depende de factores como la intensidad de campo, el tiempo de tratamiento (número y anchura de pulsos), la forma de los pulsos, la frecuencia y la polaridad de aplicación (Qin y col., 1995a; Qiu y col., 1998; Elez-Martínez y col., 2004, 2005). La destrucción de microorganismos también depende del tipo de microorganismo, de la concentración de inóculo inicial, del estadio de crecimiento del mismo y de la concentración iónica del medio en el que se encuentran (Pothakamury 1995; Zhang et al 1994).

Por lo tanto, para mejorar la efectividad de la aplicación de los pulsos eléctricos se tienen que encontrar las condiciones de tratamiento más adecuadas así como conocer las propiedades eléctricas del alimento que se va a tratar, entre las que es destacable la resistividad. Los zumos son productos que tienen una resistividad muy variada en función de las características de la fruta de la que proceden. En general es más elevada que la del resto de productos aptos para poder ser tratados mediante

PEAIC. Además, la resistividad de los zumos decrece con el aumento de la temperatura y describe una curva polinomial de segundo orden con respecto a la concentración de pulpa presente en el zumo, por lo que existe un mínimo de resistividad que para el zumo de melocotón es de 10-12.5 % de pulpa (Arántegui y col., 1999).

También se han realizado estudios acerca del efecto que ejercen los PEAIC sobre las enzimas de los zumos (Van Loey y col., 2002; Yeom y col., 2002; Min y col., 2003a; Rodrigo y col., 2003; Elez-Martínez y col., 2006a; Elez-Martínez y col., 2007). Se ha observado que en algunos casos los niveles de inactivación enzimática son elevados, mientras que en otros prácticamente no se produce inactivación, dependiendo del tipo de zumo y de las condiciones de procesado.

En menor grado, existen estudios relacionados con el impacto de los PEAIC sobre la calidad, las características sensoriales y los compuestos bioactivos de los zumos, temas que están siendo los más investigados actualmente.

En este capítulo se presentan los resultados más destacados obtenidos hasta ahora en la aplicación de PEAIC en zumos de naranja, manzana y tomate, por ser los de mayor consumo e información disponible sobre su tratamiento mediante esta técnica. En él se describen los efectos de la aplicación de esta técnica sobre dichos zumos en relación a los microorganismos, enzimas, calidad y algunos componentes minoritarios.

PROCESADO DE ZUMOS MEDIANTE PULSOS ELÉCTRICOS DE ALTA INTENSIDAD DE CAMPO

Zumo de naranja

Se han llevado a cabo estudios del efecto de los PEAIC tanto en microorganismos patógenos como alteradores inoculados en zumo de naranja. En zumo de naranja recién exprimido, McDonald y col. (2000),

realizando un tratamiento de hasta 6 pulsos de 2 μ s a 30 kV/cm, consiguieron 5-6 reducciones logarítmicas de *Listeria innocua* y *Escherichia coli*, mientras la bacteria *Leuconostoc mesenteroides* se destruyó en menor medida, del orden de 3,5 reducciones logarítmicas. También comprobaron que si el tratamiento era a 50 kV/cm, la destrucción no aumentaba en todos los casos. Cuando el tiempo de tratamiento era reducido (<8 μ s) la bacteria más resistente de las tres era *Leuconostoc mesenteroides* (gram negativa) y la más sensible *Listeria innocua* (gram positiva).

En un estudio posterior, se observaron cerca de 3 reducciones logarítmicas en *Escherichia coli* inoculada en zumo de naranja procesado a 30 kV/cm durante 200 μ s (Rodrigo y col., 2003a). Liang y col. (2002) observaron casi 6 reducciones decimales después de inocular zumo de naranja con *Salmonella typhimurium* y procesarlo a 90 kV/cm durante 100 μ s a 55 °C. Otros autores han procesado zumo de naranja inoculado con *Salmonella enteritidis* o *E. coli* O157:H7 a 35 kV/cm durante 2000 μ s consiguiendo más de 5 reducciones logarítmicas en ambos patógenos, sin superar los 40 °C durante el procesado (Mosqueda-Melgar y col., 2008a).

En zumo de naranja inoculado con *Saccharomyces cerevisiae*, Grahl y Märkl (1996) consiguieron la eliminación casi total de un inóculo inicial de 10⁶ ufc/ml aplicando 5 pulsos a una intensidad de campo de 7 kV/cm en zumo de naranja. Tras procesar zumo de naranja a 35 kV/cm durante 1000 μ s sin superar los 40 °C se observó una reducción máxima de 5,1 reducciones logarítmicas (Elez-Martínez y col., 2004).

El efecto de los PEAIC también se ha estudiado en otros microorganismos alteradores como los *Lactobacillus*. Elez-Martínez y col. (2005) consiguieron unos niveles de inactivación cerca de las 6 reducciones logarítmicas cuando trataron zumo de naranja inoculado con *L. brevis* durante 1000 μ s a 35 kV/cm, sin superar los 40 °C (Figura 1). Gómez y col. (2005a) procesaron zumo de naranja inoculado con *L. plantarum* a 25 kV/cm durante 1000 μ s y observaron cerca de 3 reducciones logarítmicas.

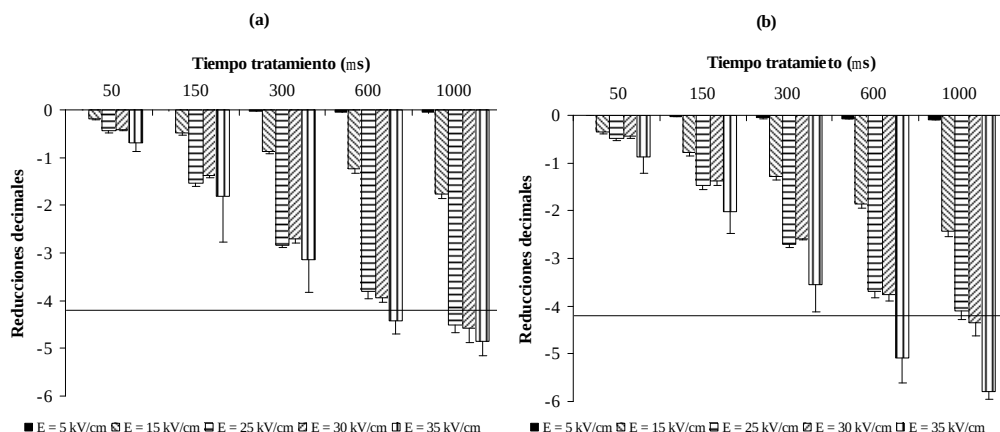


Figura 1. Inactivación de *Lactobacillus brevis* en zumo de naranja expuesto a PEAIC aplicados en forma monopolar (a) y bipolar (b). E, intensidad de campo eléctrico. Tratamiento térmico = 90 °C / 1 minuto (línea horizontal) (Elez-Martínez y col., 2005).

También se han realizado estudios sobre el efecto del tratamiento mediante PEAIC en las ascosporas de *S. cerevisiae* en zumo de naranja recién exprimido. Al aplicar PEAIC de 2 μ s de anchura a 30 kV/cm o 50 kV/cm se consiguió menos de 1 reducción logarítmica a temperaturas inferiores a 60 °C. Las muestras alcanzaron esta temperatura cuando se trataron durante 14 μ s a 30 kV/cm o durante 6 μ s a 50 kV/cm. Sin embargo cuando los pulsos aplicados eran de 2.6 μ s la destrucción era de más de 2 reducciones logarítmicas antes de alcanzar los 60 °C, cosa que sucedió cuando el tiempo de tratamiento fue 23 μ s (McDonald y col., 2000).

Raso y col. (1998a) aplicaron tratamientos de PEAIC desde 32,3 a 36,5 kV/cm sobre ascosporas de *Zygosaccharomyces bailii* en diferentes zumos de naranja a una temperatura máxima de 22 °C. Después de 2 pulsos se habían inactivado las células vegetativas 4,7 ciclos logarítmicos y sus ascosporas 3,8 ciclos logarítmicos. Raso y col. (1998b) también realizaron estudios en diversos mohos encontrando que las ascosporas de *Byssoschlamys nivea* y de *Neosartorya fischeri* eran resistentes a un

tratamiento de 40 pulsos a 51 kV/cm. En conidiosporas de *Byssoschlamys fulva* el efecto era de 4,5 reducciones logarítmicas para el zumo de naranja después de 12 pulsos a 30 kV/cm, aproximadamente.

En lo referente a las enzimas, pectin metil esterasa (PME) y peroxidasa (POD) han sido las más estudiadas en zumo de naranja. Un tratamiento continuo de PEAIC a 35 kV/cm durante 59 μ s and 60.1 °C inactivó la PME de un zumo de naranja hasta un 90% (Yeom y col., 2002). Elez-Martínez y col. (2007) encontraron una inactivación de la PME del 80% cuando procesaron zumo de naranja a 35 kV/cm durante 1500 μ s con pulsos bipolares de 4 μ s a 200 Hz sin exceder los 37.5 °C. Elez-Martínez y col. (2007) observaron mayores niveles de inactivación enzimática cuando la frecuencia aumentó de 50 a 450 Hz y la anchura de pulso de 1 a 10 μ s. Sin embargo, la PME de zumo de naranja no se pudo inactivar más de un 10% con un tratamiento de 1 ms a 35 kV/cm (Van Loey y col., 2002). Algunos autores han encontrado efectos sinérgicos entre los PEAIC y el tratamiento térmico en la inactivación de PME en zumos de frutas (Yeom y col, 2002; Rodrigo y col., 2003b).

La inactivación de POD fue completa cuando el zumo de naranja se procesó a 35 kV/cm durante 1500 μ s con pulsos bipolares de 4 μ s a 200 Hz, manteniendo temperaturas inferiores a 35 °C (Elez-Martínez y col., 2006a). La densidad de energía aplicada para la inactivación total de POD de zumo de naranja fue 8067 MJ/m³.

Otro aspecto evaluado en la conservación de zumo de naranja mediante PEAIC ha sido la influencia que éstos ejercen sobre los compuestos bioactivos del zumo. Así se ha estudiado el efecto sobre vitamina C, carotenoides, fenoles y actividad antioxidante. En zumo de naranja, un tratamiento de 35 kV/cm durante 1000 μ s con pulsos bipolares de 4 μ s a 200 HZ provocó una disminución del 8% en el contenido de vitamina C del zumo. Sin embargo, un tratamiento térmico (90 °C – 1 min) condujo a unas pérdidas del 17% (Elez-Martínez y Martín-Belloso, 2007).

Cortés y col. (2006a) observaron que la pasteurización térmica del zumo de naranja disminuía en mayor grado la concentración total de carotenoides en zumo que el tratamiento de PEAIC. De tal forma que los tratamientos de pasteurización térmica disminuían la concentración total de carotenoides un 12% mientras que en el zumo procesado por PEAIC se observaron reducciones de la concentración del 9,6%, 6,4% o 7,8% cuando se aplicaron tratamientos de 25, 30 o 40 kV/cm, respectivamente.

En un estudio realizado por Sánchez-Moreno y col. (2005) en el que se estudia el efecto de los PEAIC sobre las flavanonas de zumo de naranja, se observó que los PEAIC no modificaron el contenido en naringenina ni hesperitina de este zumo.

La capacidad antioxidante de zumos de frutas y vegetales como naranja y gazpacho no se modifica sustancialmente al tratar estos productos con PEAIC. En cualquier caso, la ligera disminución de capacidad antioxidante producida por los PEAIC es menor que la que tiene lugar después de tratar térmicamente estos alimentos (Sánchez-Moreno y col., 2005; Elez-Martínez y Martín-Belloso, 2007).

Las propiedades físico-químicas y sensoriales de zumos de naranja procesados por PEAIC han sido estudiadas por Cserhalmi y col. (2006). Después de procesar el zumo de naranja a 28 kV/cm durante 100 μ s a temperaturas inferiores a 34 °C, el pH, los sólidos solubles, la conductividad eléctrica, la viscosidad, el color, el índice de pardeamiento no enzimático y el hidroximetil furfural del zumo prácticamente no variaron respecto a un zumo no tratado. Tampoco se observaron cambios en el contenido en ácidos orgánicos ni en compuestos volátiles al procesar el zumo con PEAIC.

El contenido de componentes responsables del sabor del zumo de naranja se redujo hasta un 22-25% tras un tratamiento de pasteurización térmica, mientras que sólo se detectó del 3 al 9 % de pérdida en el zumo tratado mediante PEAIC durante un tiempo total de 240-480 μ s a 30 kV/cm (Qiu y col., 1998; Jia y col., 1999).

Zumo de manzana

Diversos estudios se han llevado a cabo para determinar el efecto de los PEAIC sobre la microbiota patógena y alterante de zumo de manzana. Entre los microorganismos patógenos, *E. coli* ha sido el más estudiado en este zumo. Evrendilek y col. (1999) compararon el efecto de los PEAIC sobre 2 cepas de *E. coli* (O157:H7 y 8739) en zumo de manzana. Las muestras se expusieron a pulsos con intensidades de campo de 18 a 30 kV/cm y tiempos de tratamiento totales de 86 a 172 μ s manteniendo la temperatura por debajo de 35 °C. De esta forma, no se observaron diferencias en la destrucción de ambas cepas, siendo la inactivación máxima del orden de 5 reducciones logarítmicas. Además, manteniendo una intensidad de campo constante de 29 kV/cm, el número de microorganismos viables disminuyó al incrementar el tiempo de tratamiento, siendo la reducción máxima de 5 y 5,4 reducciones logarítmicas respectivamente tras 172 μ s. Por otro lado, el efecto de los PEAIC sobre *E. coli* K12 fue estudiado por Gupta y col. (2003) y Heinz y col. (2003). Los primeros investigadores observaron 5 reducciones logarítmicas al procesar zumo de manzana inoculado con *E. coli* con 100 pulsos de 40 kV/cm a 20 °C; mientras que Heinz y col. (2003) aplicaron 34 kV/cm con una densidad de energía de 40 kJ/kg y 55 °C al zumo inoculado con *E. coli* y consiguieron reducir su población inicial en 6,2 logaritmos.

Tras procesar zumo de manzana inoculado con *Listeria monocytogenes* a 28 kV/cm durante 400 μ s se observaron alrededor de 6 reducciones logarítmicas (Gómez y col., 2005b). Heinz y col. (2003) informaron sobre la reducción de 4,3 logaritmos en *Listeria monocytogenes* inoculada en zumo de manzana procesado con 34 kV/cm y una densidad de energía de 40 kJ/kg a 55 °C.

También se ha investigado el efecto inactivador de los PEAIC sobre los lactobacilos inoculados en zumo de manzana. Heinz y col. (2003) procesaron zumo de manzana inoculado con *Lactobacillus rhamnosus* a 34

kV/cm con una densidad de energía de 40 kJ/kg y 55 °C consiguiéndose 4,9 reducciones logarítmicas. La población inicial de *Lactobacillus plantarum* inoculada en zumo de manzana se redujo 4,5 logaritmos tras procesar el zumo a 25 kV/cm durante 1000 μ s (Gómez y col., 2005a).

En zumo de manzana inoculado con *Saccharomyces cerevisiae*, Qin et al (1995b) consiguieron la eliminación casi total de un inóculo inicial de 10^6 cfu/ml aplicando 10 pulsos de 2,5 μ s a 35 kV/cm. Heinz y col. (2003) inocularon zumo de manzana con *Aspergillus niger* o *Rhizopus rubra* y lo procesaron a 34 kV/cm con una densidad de energía de 40 kJ/kg y 55 °C, lográndose 4,3 y 6,5 reducciones logarítmicas, respectivamente.

Raso y col. (1998a) aplicaron tratamientos de PEAIC desde 32,3 a 36,5 kV/cm sobre ascoporas de *Zygosaccharomyces bailii* en zumo de manzana a una temperatura máxima de 22 °C. Después de 2 pulsos se habían inactivado 4,8 ciclos logarítmicos las células vegetativas y 3,6 ciclos logarítmicos sus ascoporas. Raso y col. (1998b) también realizaron estudios en diversos mohos encontrando que las ascoporas de *Byssoschlamys nivea* y de *Neosartorya fischeri* eran resistentes a un tratamiento de 40 pulsos a 51 kV/cm. En conidiosporas de *Byssoschlamys fulva* en el zumo, el efecto fue de 5 reducciones logarítmicas después de 15 pulsos a 30 kV/cm, aproximadamente.

Las enzimas estudiadas en zumo de manzana han sido polifenoloxidasas (PPO) y peroxidasa (POD). Un tratamiento de 40 kV/cm durante 100 μ s a 35 °C condujo a la inactivación de un 50% de POD y un 60% de PPO en el zumo (Riener y col., 2008). En este trabajo también se observó que al aumentar el tiempo de tratamiento y la intensidad de campo eléctrico, aumentaba el grado de inactivación de las enzimas estudiadas.

El efecto que ejercen los PEAIC sobre los compuestos bioactivos de zumo de manzana ha sido estudiado por Aguilar-Rosas y col. (2007). Estos autores encontraron que el contenido en fenoles totales del zumo de manzana disminuyó en un 14% al procesar el zumo mediante PEAIC (35

kV/cm, pulsos bipolares de 4 μ s, 1200 Hz), mientras que disminuyó en un 32% al tratarlo térmicamente (90 °C, 30 s).

Las pérdidas en componentes volátiles del zumo de manzana procesado con un tratamiento de 35 kV/cm con pulsos bipolares de 4 μ s a 1200 Hz fueron menores que las observadas para un tratamiento térmico (90 °C, 30 s) (Aguilar-Rosas y col., 2007).

Qin y col. (1995a) sometieron a un análisis sensorial zumo de manzana concentrado después de aplicarle 10 pulsos de 50 kV/cm y zumo de manzana fresco sometido a 16 pulsos de 50 kV/cm y en ninguno de ellos se detectaron diferencias sensoriales significativas respecto al mismo producto sin tratar.

Igualmente, Zárate-Rodríguez y col. (2000) encontraron que al aplicar PEAIC, ninguno de los atributos de los zumos de manzana que estudiaron (sólidos solubles, pH, acidez y color) variaban excepto el color, puesto que el zumo presentaba un cierto pardeamiento. Aguilar-Rosas y col. (2007) no observaron cambios en el pH ni en la acidez del zumo tratado con PEAIC.

Zumo de tomate

Procesando zumo de tomate inoculado con *Salmonella enterica* ser. Enteritidis con un tratamiento de 35 kV/cm durante 1000 μ s con PEAIC bipolares de 4 μ s y 100 Hz, sin superar los 36 °C durante el tratamiento, se redujo en 4,2 logaritmos la población inicial del microorganismo patógeno inoculado en zumo de tomate (Mosqueda-Melgar y col., 2008b).

En conidiosporas de *Byssoschlamys fulva* el efecto de los PEAIC fue de 4 reducciones logarítmicas, aproximadamente, para el zumo de tomate después de un tratamiento de 15 pulsos a 30 kV/cm (Raso y col., 1998b).

Las enzimas estudiadas en zumo de tomate han sido pectin metil esterasa (PME), poligalacturonasa (PG), lipoxigenasa (LOX) y peroxidasa (POD). Los PEAIC redujeron la actividad de la PME en un 55% cuando se

procesó zumo de tomate a 80 kV/cm durante 40 μ s a 5 °C, mientras que los PEAIC no afectaron a la actividad de la PG (Nguyen y Mittal, 2007). La LOX se inhibió en un 80% cuando se procesó zumo de tomate con 20 kV/cm durante 60 μ s a 30 °C (Min y col., 2003a). La POD de zumo de tomate fue completamente inactivada cuando se trató el zumo de tomate con 35 kV/cm durante 2000 μ s usando pulsos bipolares de 7 μ s a 200 Hz. También se observó que al aumentar el tiempo de tratamiento, la anchura de pulso y la frecuencia de pulsación, aumentó el nivel de inactivación de esta enzima (Aguiló-Aguayo y col., 2008).

El contenido relativo máximo de licopeno (131,8%) y de vitamina C (90,2%), así como la mayor retención de la capacidad antioxidante (89,4%) de zumo de tomate se obtuvo al procesar el zumo a 35 kV/cm durante 1000 μ s con pulsos bipolares de 1 μ s a 250 Hz (Odriozola-Serrano y col., 2007) (Tabla 1). Nguyen y Mittal (2007) también informaron sobre el mantenimiento de la vitamina C en zumo de tomate procesado con PEAIC.

Procesando zumo de tomate mediante PEAIC (40 kV/cm, 59 μ s), se obtiene zumo con una mayor retención de aromas, un menor pardeamiento no enzimático y con mayor coloración roja que si se procesa térmicamente (92 °C, 90 s) (Min y Zhang, 2003).

Tabla 1. Efecto de los PEAIC sobre licopeno, vitamina C y capacidad antioxidante de zumo de tomate (Odriozola-Serrano y col., 2007).

Frecuencia (Hz)	Anchura pulso (μ s)	Monopolar		Bipolar		Monopolar		Bipolar		Monopolar		Bipolar	
		Contenido relativo Licopeno (%)		Retención Vitamina C (%)		Retención Capacidad Antioxidante (%)							
50	1	101.0 $\pm$ 0.2	103.2 $\pm$ 2.7	99.0 $\pm$ 0.1	98.3 $\pm$ 0.5	50.7 $\pm$ 1.1	66.5 $\pm$ 0.8						
50	7	112.3 $\pm$ 2.6	114.2 $\pm$ 0.3	84.4 $\pm$ 1.1	82.1 $\pm$ 0.9	81.8 $\pm$ 2.5	86.1 $\pm$ 2.7						
250	1	113.4 $\pm$ 1.1	129.1 $\pm$ 2.1	93.8 $\pm$ 0.9	86.1 $\pm$ 0.7	77.5 $\pm$ 0.2	90.4 $\pm$ 0.2						
250	7	135.1 $\pm$ 3.0	146.2 $\pm$ 0.5	66.0 $\pm$ 0.9	60.6 $\pm$ 1.6	67.8 $\pm$ 0.2	75.9 $\pm$ 2.2						
50	4	110.2 $\pm$ 0.1	101.1 $\pm$ 0.4	92.2 $\pm$ 0.9	88.4 $\pm$ 0.7	62.3 $\pm$ 1.1	74.6 $\pm$ 0.5						
150	1	107.0 $\pm$ 1.5	118.7 $\pm$ 0.1	98.6 $\pm$ 0.3	89.2 $\pm$ 0.7	60.4 $\pm$ 0.9	80.1 $\pm$ 0.7						
150	7	118.9 $\pm$ 1.1	128.1 $\pm$ 0.3	80.2 $\pm$ 0.7	58.2 $\pm$ 0.7	78.3 $\pm$ 0.7	81.3 $\pm$ 0.1						
250	4	127.0 $\pm$ 0.4	142.7 $\pm$ 1.8	82.6 $\pm$ 0.4	78.8 $\pm$ 1.2	72.6 $\pm$ 0.3	81.0 $\pm$ 0.1						
150	4	109.6 $\pm$ 0.5	119.4 $\pm$ 2.4	76.6 $\pm$ 1.2	74.8 $\pm$ 1.6	81.3 $\pm$ 1.1	92.3 $\pm$ 1.8						

VIDA ÚTIL Y ALMACENAMIENTO DE ZUMOS PROCESADOS MEDIANTE PULSOS ELÉCTRICOS DE ALTA INTENSIDAD DE CAMPO

Zumo de naranja

El efecto de los PEAIC en la vida útil de zumo de naranja ha sido motivo de muchos estudios por tratarse de uno de los zumos más populares. Se ha observado que un tratamiento de PEAIC de 480 μ s a 30 kV/cm fue efectivo en la reducción de los recuentos totales en zumo de naranja y, en consecuencia, en la extensión de su vida útil (Jia y col., 1999). Un tratamiento de 35 kV/cm y 59 μ s al igual que una pasteurización térmica a 94,6 °C durante 30 segundos mantuvieron por debajo de 1 log ufc/ml el número de microorganismos en el zumo de naranja almacenado a 4, 22 y 37 °C durante 112 días (Yeom y col, 2000ab; Ayhan y col., 2002). Min y col. (2003b) estudiaron la vida útil de zumo de naranja procesado con un equipo de pulsos eléctricos de escala comercial. Después del procesado con

PEAIC (40 kV/cm, 97 μ s), los recuentos de aerobios totales y de mohos y levaduras estuvieron siempre por debajo de 10 ufc/ml y se mantuvieron durante 112 días a 4 °C. Elez-Martínez y col. (2006b) observaron que un tratamiento de 35 kV/cm y 1000 μ s garantizó la seguridad del zumo de naranja durante al menos 56 días en combinación con almacenamiento en refrigeración (4 °C) (Figura 2).

Yeom y col. (2000b) estudiaron los efectos del tratamiento mediante PEAIC sobre PME de zumo de naranja comparándolos con los efectos del pasteurizado tradicional. Los análisis después de los tratamientos mostraron respectivamente un 88% y 98% de reducción de la actividad enzimática. El zumo tratado y conservado a 4 y 22°C analizado al cabo de 112 días no mostró incremento alguno en la actividad PME. Elez-Martínez y col. (2006b) no observaron activación alguna de PME ni de POD en zumo de naranja almacenado a 4 y 22 °C durante 56 días después de procesarlo con PEAIC.

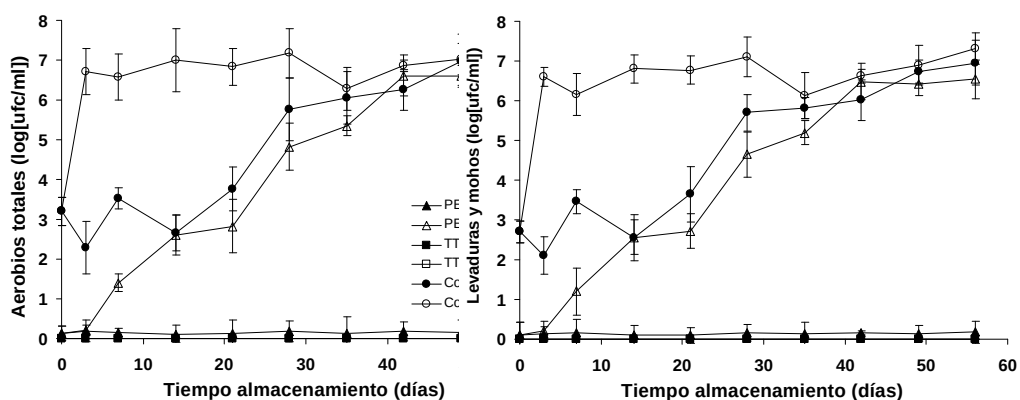


Figura 2. Efecto de los PEAIC y la pasteurización térmica en el recuento de microorganismos aerobios totales, y levaduras y mohos durante el almacenamiento de zumo de naranja a 4 y 22 °C (Elez-Martínez y col., 2006b).

A lo largo del periodo de almacenamiento del zumo de naranja procesado mediante PEAIC se producen cambios en sus propiedades físico-químicas y sensoriales (color, pH, acidez, °Brix, viscosidad, aromas), pero estos cambios son menores que los que se producen durante el almacenamiento del zumo procesado por calor (Yeom y col., 2000b; Min y col., 2003b; Elez-Martínez y col., 2006b; Cortés y col., 2008).

Durante el periodo de almacenamiento en refrigeración o a temperatura ambiente, el zumo de naranja procesado mediante PEAIC pierde vitamina C pero las pérdidas son menores que las que tienen lugar en el zumo sin procesar o el sometido a tratamiento térmico (Yeom y col., 2000b; Min y col., 2003b; Elez-Martínez y col., 2006b). Cortés y col. (2006b) trataron zumo de naranja térmicamente (90 °C, 20 s) o con PEAIC (30 kV/cm, 100 µs) y lo almacenaron a 2 °C. En este estudio observaron que las pérdidas en carotenoides totales eran del 12,6% en el zumo tratado térmicamente y de 6,7% en el procesado con PEAIC al cabo de 7 semanas de almacenamiento.

En términos de capacidad antioxidante, ésta disminuye suavemente durante el almacenamiento de zumo de naranja procesado mediante PEAIC pero no se apreciaron diferencias con la capacidad antioxidante del zumo de naranja sin procesar (Elez-Martínez y col., 2006b; Plaza y col., 2006).

Zumo de manzana

Cuando se trató zumo de manzana con 250 µs a 36 kV/cm se consiguió una vida útil microbiológica de más de 3 semanas tanto a 4 °C como a 25 °C (Qin y col., 1995b). La vida útil de zumo de manzana reconstituido procesado a 35 kV/cm y 94 µs fue superior a los 67 días almacenándolo a 4 °C (Evrendilek y col., 2000).

A lo largo del periodo de almacenamiento se producen cambios de color en el zumo de manzana, pero estos cambios son menores que los que se producen durante el almacenamiento del zumo procesado por calor

(Evrendilek y col., 2000).

El procesado con PEAIC de zumo de manzana favorece la retención de vitamina C durante el almacenamiento del zumo tanto a temperatura de refrigeración como a temperatura ambiente (Evrendilek y col., 2000).

Zumo de tomate

Min y col. (2003c) estudiaron la vida útil de zumo de tomate comparando el tratamiento térmico con el procesado mediante PEAIC. El zumo de tomate se procesó térmicamente a 92 °C durante 90 s o por PEAIC a 40 kV/cm durante 57 μ s y se almacenó a 4 °C. Las dos tecnologías de procesado proporcionaron una vida útil de 112 días que fue el tiempo durante el que se realizó el recuento de aerobios totales y de mohos y levaduras.

Se han llevado a cabo investigaciones en zumo de tomate comprobando la actividad lipoxigenasa (LOX) (Min y col., 2003c). En ellos se obtiene un 46% de actividad residual después del procesado mediante PEAIC, que no aumenta en los análisis realizados sobre la muestra tratada y conservada a 4 °C a los 112 días.

Los cambios en las propiedades físico-químicas y sensoriales (color, pH, acidez, °Brix, viscosidad, aromas) del zumo de tomate a lo largo del periodo de almacenamiento son menores en el zumo tratado por PEAIC que en el procesado por calor (Min y Zhang, 2003; Min y col., 2003c).

El zumo de tomate procesado mediante PEAIC retiene mejor la vitamina C y el licopeno que el zumo tratado térmicamente, tanto en almacenamiento en refrigeración como a temperatura ambiente (Min y col., 2003c). El zumo de tomate procesado mediante PEAIC (35 kV/cm, 1500 μ s) mostró mayor contenido en vitamina C y en licopeno durante el almacenamiento a 4 °C que el tratado térmicamente (90 °C, 30 s y 90 °C, 60 s). El contenido en fenoles totales permanece invariable durante el

almacenamiento independientemente del tratamiento aplicado al zumo de tomate. La capacidad antioxidante de este zumo disminuye durante el almacenamiento en refrigeración, no existiendo diferencias entre el zumo tratado por PEAIC o por tratamiento térmico (Odriozola-Serrano y col., 2008).

COMBINACIÓN DE PULSOS ELÉCTRICOS DE ALTA INTENSIDAD DE CAMPO CON OTRAS TECNOLOGÍAS DE PROCESADO PARA LA CONSERVACIÓN DE ZUMOS

El empleo combinado de PEAIC con otras tecnologías de procesado se está estudiando en los últimos años con el fin de encontrar efectos sinérgicos que permitan una mejor conservación de los zumos tratados. En este sentido, la aplicación de PEAIC en combinación con tratamientos térmicos puede conseguir los niveles de inactivación microbiana que se alcanzarían mediante tratamientos térmicos más intensos, logrando, de este modo, un mejor mantenimiento de las características físico-químicas y nutricionales de los zumos. Heinz y col. (2003) aplicaron pulsos de 36 kV/cm a distintas temperaturas para inactivar *E. coli* inoculado a un zumo de manzana y consiguieron más de 5,5 reducciones logarítmicas trabajando a 60°C, frente a las poco más de 3 reducciones logarítmicas alcanzadas mediante un tratamiento a 35°C. Además, el tratamiento a 60°C permitió reducir más de 5 veces la cantidad de energía necesaria para tratar una unidad de producto en relación con la energía aplicada al realizar el tratamiento a 35 °C.

Liang y col. (2002) trataron zumo de naranja con 20 pulsos a 90 kV/cm aplicados bajo temperaturas comprendidas en el rango de 30-50°C. Cuando el tratamiento fue aplicado hasta temperaturas de 45°C, los valores de inactivación de *Salmonella typhimurium* inoculada en el zumo no superaron las 1,4 reducciones logarítmicas. Sin embargo, el tratamiento a

50°C dio lugar a una destrucción de 4,2 ciclos logarítmicos. El incremento de la inactivación microbiana se ha atribuido a la reducción del grosor de las paredes celulares, lo que se debe al cambio de estado de los fosfolípidos que se encuentran en la membrana, de gel a fase líquida-cristalina, a medida que la temperatura aumenta. En general, el empleo combinado de calor y PEAIC permite una mayor inactivación tanto de microorganismos como de los enzimas responsables de las reacciones de deterioro de los zumos. Yeom y col. (2002) obtuvieron una disminución del 90% de la actividad pectin metilesterásica de un zumo de naranja aplicando un tratamiento a 25 kV/cm durante 250 μ s y temperatura de 50°C. Por el contrario, mediante la aplicación del mismo tratamiento a 20°C tan solo se obtuvo alrededor de un 35% de inactivación enzimática.

Diversos autores han propuesto la adición compuestos antimicrobianos como técnica complementaria a la aplicación de PEAIC en zumos de frutas. El empleo de nisina (100 UI/ml) o lisozima (2.400 UI/ml) en zumo de naranja tratado con PEAIC (90 kV/cm, 30 pulsos, 45 °C) permitió obtener 4,8 y 4.3 reducciones logarítmicas en los recuentos de *S. typhimurium*, frente a las 2,2 reducciones logarítmicas alcanzadas mediante la aplicación del tratamiento de pulsos sin adición de antimicrobianos (Liang y col., 2002). Además se observó una disminución de 6,5 ciclos logarítmicos al combinar el tratamiento de PEAIC con nisina (27,5 UI/ml) y lisozima (690 UI/ml). Hodgins y col. (2002) obtuvieron una inactivación máxima de 6 ciclos logarítmicos en la microbiota nativa de un zumo de naranja al aplicar conjuntamente un tratamiento de 20 pulsos de 80 kV/cm a pH 3,5, temperatura de 44 °C, con la adición de nisina (100 UI/ml). Bajo estas condiciones de tratamiento se mantuvo un 97,5% de la vitamina C del zumo y se alcanzó una inactivación del 92,7% de la PME. En zumo de tomate, la inactivación microbiana obtenida mediante la aplicación de 20 pulsos (80 kV/cm, 50 °C) en presencia de nisina (100 UI/ml) fue 4,4 ciclos logarítmicos (Nguyen y Mittal, 2007).

Mosqueda-Melgar y col. (2008b) estudiaron la inactivación de *Salmonella enteritidis* en zumo de tomate tratado por PEAIC con la adición de antimicrobianos. Combinando un tratamiento a 35 kV/cm durante 1000 μ s con 0,1% de aceite de canela se obtuvieron 6 reducciones logarítmicas (Figura 3). De igual forma, Mosqueda-Melgar y col. (2008a) obtuvieron más de 6 reducciones logarítmicas en los recuentos de *S. enteritidis* inoculada en zumos de manzana y naranja.

La influencia del pH en la inactivación bacteriana mediante PEAIC no ha podido establecerse con claridad. Algunos estudios en disoluciones modelo han dado lugar a resultados poco concluyentes. Álvarez y col. (2000) encontraron que *Salmonella senftenberg* suspendida en disoluciones reguladoras de igual conductividad fue más resistente a los PEAIC a pH ácido que a pH neutro. Independientemente de la influencia del pH en la inactivación bacteriana mediante PEAIC, los zumos de frutas ácidos o acidificados son buenos candidatos para el procesado mediante esta tecnología porque un pH bajo impide la germinación de esporas bacterianas.

Recientemente, Noci y col (2008) han propuesto la aplicación conjunta de pulsos eléctricos (40 kV/cm, 100 μ s) y tratamientos con luz ultravioleta (30 W, 30 min, d=30 cm) para reducir la microbiota alterante de un zumo de manzana. Estos investigadores observaron que los tratamientos ultravioleta y PEAIC dan lugar a 2,2 y 5,4 reducciones logarítmicas, respectivamente, aplicados por separado. La concatenación de los dos tratamientos supera las 6 reducciones logarítmicas si se aplican primero los PEAIC y más de 7 reducciones si el zumo se somete primero al tratamiento con luz ultravioleta. Además, los tratamientos combinados permitieron una mejor conservación del color y del contenido en fenoles del zumo.

Debido a la rigidez de sus estructuras, las esporas bacterianas son altamente resistentes al procesado mediante PEAIC. La aplicación de PEAIC con otras nuevas tecnologías de procesado, como altas presiones hidrostáticas o ultrasonidos, puede permitir la inactivación de esporas.

Pagán y col. (1998) exploraron la posibilidad de germinar esporas de *Bacillus* aplicando altas presiones y luego inactivar las células germinadas mediante un tratamiento por PEAIC. Observaron que la germinación de más de 5 ciclos logarítmicos de esporas se inició mediante la presurización (1500 atm, 30 min, 40 °C), pero sin embargo, la aplicación posterior de un tratamiento por pulsos (60 kV/cm, 75 pulsos) no alcanzó resultados satisfactorios por debajo de 40 °C.

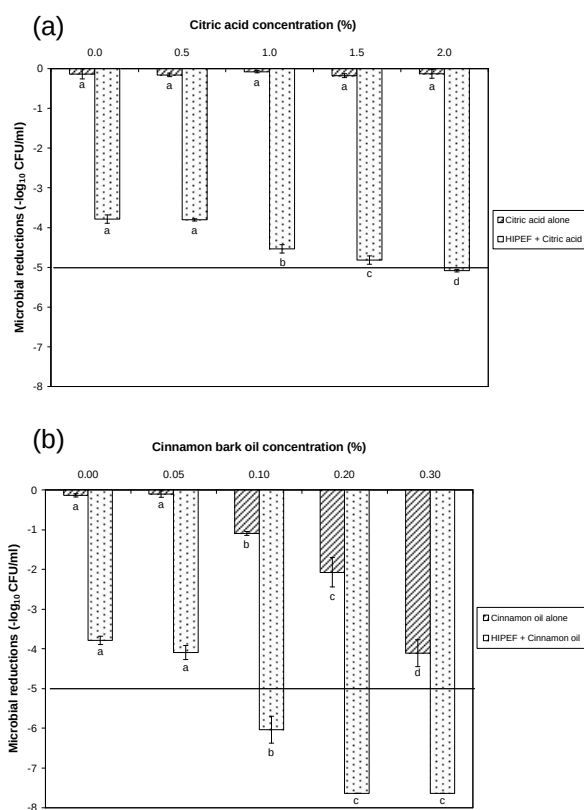


Figura 3. Inactivación de *S. enteritidis* en zumo de tomate expuesto a diferentes concentraciones de ácido cítrico (a) y aceite esencial de canela (b) solas o combinadas con PEAIC. Condiciones de tratamiento: 35 kV/cm for 1000 μ s at 100 Hz, 4 μ s pulse length and 35.8 $\pm$ 1.8° C (Mosqueda-Melgar y col., 2008b).

CONCLUSIONES

La aplicación de pulsos eléctricos de alta intensidad de campo (PEAIC) para el procesamiento de zumos es una tecnología prometedora. Este tratamiento puede ser una alternativa a los tratamientos térmicos, ya que puede proporcionar alimentos seguros y estables, produciendo cambios menores que los provocados por los tratamientos térmicos en las características sensoriales, organolépticas y nutricionales de los zumos.

Con las investigaciones realizadas hasta el momento, se espera que la tecnología de PEAIC pueda incorporarse en la industria de elaboración de zumos como forma única de conservación o formando parte de un sistema combinado de métodos de conservación. Sin embargo, hay que continuar investigando con la finalidad de diseñar equipos de procesamiento con ratios elevados de producción y con una efectividad alta en el tratamiento para poder implantar con éxito esta tecnología en la industria. Por último, también es necesario realizar una evaluación fiable de los costes económicos de su implantación a escala industrial.

REFERENCIAS

- Aguilar-Rosas, S.F.; Ballinas Casarrubias, M.L.; Nevarez-Moorillon, G.V.; Martín-Belloso, O.; Ortega-Rivas, E. (2007). Thermal and pulsed electric fields pasteurization of apple juice: effects on physicochemical properties and flavour compounds. *Journal of Food Engineering*, 83, 41-46.
- Aguiló-Aguayo, I.; Odriozola-Serrano, I.; Quintao-Teixeira, L.J.; Martín-Belloso, O. 2008. Inactivation of tomato juice peroxidase by high-intensity pulsed electric fields as affected by process conditions. *Food Chemistry*, 107, 949-955.

- Álvarez, I.; Raso, J.; Palop, A.; Sala, F. J. (2000). Influence of different factors on the inactivation of *Salmonella senftenberg* by pulsed electric fields. *International Journal of Food Microbiology*, 55, 143–146.
- Arántegui, J., Rosell, J.R., Purroy, P., E., Barbosa-Cánovas, G.V., Martín, O. (1999). "Electrical properties of peach juice and milk" *European Conference of Emerging Food Science and Technology*, Tampere, Finland.
- Ayhan, Z.; Zhang, Q. H.; Min, D. B. (2002). Effects of pulsed electric field processing and storage on the quality and stability of single-strength orange juice. *Journal of Food Protection*, 65, 1623-1627.
- Bendicho, S.; Barbosa-Cánovas, G. V.; Martín, O. (2002). Milk processing by high intensity pulsed electric fields. *Trends in Food Science and Technology*, 13, 195-204.
- Bushnell, A. H.; Dunn, J. E.; Clark, R. W.; Pearlman, J. S. (1993). High pulsed voltage systems for extending the shelf life of pumpable food products. U.S. Patent nº 5,235,905.
- Cortés, C.; Esteve, M.J.; Rodrigo, D.; Torregrosa, F.; Frígola, A. (2006a). Changes of colour and carotenoids contents during high intensity pulsed electric field treatment in orange juices. *Food and Chemical Toxicology*, 44,1932-1939.
- Cortés, C.; Torregrosa, F.; Esteve, M.J.; Frígola, A. (2006b). Carotenoid profile modification during refrigerated storage in untreated and pasteurized orange juice and orange juice treated with high-intensity pulsed electric fields. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 6247-6254.
- Cortés, C.; Esteve, M.J.; Frígola, A. (2008). Color of orange juice treated by high intensity pulsed electric fields during refrigerated storage and comparison with pasteurized juice. *Food Control*, 19, 151-158.

- Cserhalmi, Zs.; Sass-Kiss, Á.; Tóth-Markus, M.; Lechner, N. (2006). Study of pulsed electric field treated citrus juices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7, 49-54.
- Dutreux, N.; Notremans, S.; Witjzes, T.; Góngora-Nieto, M.M.; Barbosa-Cánovas, G.V.; Swanson, B.G. (2000) Pulsed electric field inactivation of attached and free-living *Escherichia coli* and *Listeria innocua* under several conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 54, 91–98.
- Elez-Martínez, P.; Escolà-Hernández, J.; Soliva-Fortuny, R.C.; Martín-Belloso, O. (2004). Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* suspended in orange juice using high-intensity pulsed electric fields. *Journal of Food Protection*, 67, 2596-2602.
- Elez-Martínez, P.; Escolà-Hernández, J.; Soliva-Fortuny, R.C.; Martín-Belloso, O. (2005). Inactivation of *Lactobacillus brevis* in orange juice by high-intensity pulsed electric fields. *Food Microbiology*, 22, 311-319.
- Elez-Martínez, P.; Aguiló-Aguayo, I.; Martín-Belloso, O. (2006a). Inactivation of orange juice peroxidase by high-intensity pulsed electric fields as influenced by process parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 71-81.
- Elez-Martínez, P.; Soliva-Fortuny, R.C.; Martín-Belloso, O. (2006b). Comparative study on shelf life of orange juice processed by high intensity pulsed electric fields or heat treatment. *European Food Research and Technology*, 222, 321-329.
- Elez-Martínez, P.; Martín-Belloso, O. (2007). Effect of high intensity pulsed electric field processing conditions on vitamin C and antioxidant capacity of orange juice and gazpacho, a cold vegetable soup. *Food Chemistry*, 102, 201-209.
- Elez-Martínez, P.; Suárez-Recio, M.; Martín-Belloso, O. (2007). Modeling the reduction of pectin methyl esterase activity in orange juice by high

- intensity pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 78, 184-193.
- Espachs-Barroso, A.; Barbosa-Cánovas, G. V.; Martín-Belloso, O. (2003). Microbial and enzymatic changes in fruit juice induced by high-intensity pulsed electric fields. *Food Reviews International*, 19, 253-273.
- Evrendilek, G.A.; Zhang, Q.H.; Richter, E.R. (1999). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Escherichia coli* 8739 in apple juice by pulsed electric fields. *Journal of Food Protection*, 62, 793-796.
- Evrendilek, G.; Jin, Z. T.; Ruhlman, K. T.; Qiu, X.; Zhang, Q. H.; Richter, E. R. (2000). Microbial safety and shelf-life of apple juice and cider processed by bench and pilot scale PEF systems. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1, 77-86.
- Gómez, N.; García D.; Álvarez, I.; Raso, J.; Condón, S. (2005a). A model describing the kinetics of inactivation of *Lactobacillus plantarum* in a buffer system of different pH and in orange and apple juice. *Journal of Food Engineering*, 70, 7-14.
- Gómez, N.; García, D.; Álvarez, I.; Condón, S.; Raso, J. (2005b). Modelling inactivation of *Listeria monocytogenes* by pulsed electric fields in media of different pH. *International Journal of Food Microbiology*, 103, 199-206.
- Grahl, T.; Märkl, H. (1996). Killing of microorganisms by pulsed electric fields. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 45, 148-157.
- Gupta, B.S.; Masterson, F.; Magee, T.R.A. (2003). Inactivation of *E. coli* K12 in apple juice by high voltage pulsed electric fields. *European Food Research and Technology*, 217, 434-437.
- Heinz, V.; Toepfl, S.; Knorr, D. (2003). Impact of temperature on lethality and energy efficiency of apple juice pasteurization by pulsed electric fields treatment. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4, 167-175.

- Hodgins, A.M.; Mittal, G.S.; Griffiths, M.W. (2002) Pasteurization of fresh orange juice using low-energy pulsed electrical field. *Journal of Food Science*, 67, 2294-2299.
- Jia, M., Zhang, Q.H., Min, D.B. (1999). Pulsed electric field processing effects on flavor compounds and microorganisms of orange juice. *Food Chemistry*, 65, 445-451.
- Liang, Z.; Mittal, G.S.; Griffiths, M.W. (2002). Inactivation of *Salmonella typhimurium* in orange juice containing antimicrobial agents by pulsed electric field. *Journal of Food Protection*, 65, 1081-1087.
- Martín, O.; Zhang, Q.; Castro, A. J.; Barbosa-Canovas, G. V.; Swanson, B. G. 1994. Revisión: Empleo de pulsos eléctricos de alto voltaje para la conservación de alimentos. Microbiología e ingeniería del proceso. *Revista Española de Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 1 (34): 1-34.
- Martín-Belloso, O.; Bendicho, S.; Elez-Martínez, P.; Barbosa-Cánovas, G.V. (2005). Do high intensity pulsed electric fields induce changes in enzymatic activity, protein conformation and vitamin and flavor stability? En: Barbosa-Cánovas, G.V.; Tapia, M.S.; Cano, M.P. (Eds.). *Novel Food Processing Technologies*. Marcel Dekker/CRC Press. New York, USA. pp. 87-104.
- Martín-Belloso, O.; Elez-Martínez, P. (2005a). Enzymatic inactivation by pulsed electric fields. En: Sun, D.W. (Ed.). *Emerging Technologies for Food Processing*. Elsevier. London, UK. pp. 155-181.
- Martín-Belloso, O.; Elez-Martínez, P. (2005b). Food safety aspects of pulsed electric fields. En: Sun, D.W. (Ed.). *Emerging Technologies for Food Processing*. Elsevier. London, UK. pp. 183-217.
- McDonald, C.J.; Lloyd, S. W.; Vitale, M.A.; Petersson, K.; Innings, F. (2000). Effects of pulsed electric fields on microorganisms in orange juice using electric field strenghts of 30 and 50 kV/cm. *Journal of Food Science*, 65, 984- 989.

- Min, S.; Min, S.K.; Zhang, Q.H. (2003a). Inactivation kinetics of tomato juice lipooxygenase by pulsed electric fields. *Journal of Food Science*, 68, 1995-2001.
- Min, S.; Jin, Z. T.; Min, S. K.; Yeom, H.; Zhang, Q. H. (2003b). Commercial-scale pulsed electric field processing of orange juice. *Journal of Food Science*, 68, 1265-1271.
- Min, S.; Jin, Z. T.; Zhang, Q. H. (2003c). Commercial scale pulsed electric field processing of tomato juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3338-3344.
- Min, S.; Zhang, Q.H. (2003). Effects of commercial-scale pulsed electric field processing on flavor and color of tomato juice. *Journal of Food Science*, 68, 1600-1606.
- Moses, B. D. (1938). Electric pasteurization of milk. *Agricultural Engineering*, december 1938.
- Mosqueda-Melgar, J.; Raubaudy-Massilia, R.M.; Martín-Belloso, O. (2008a). Non-thermal pasteurization of fruit juices by combining high-intensity pulsed electric fields with natural antimicrobial. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 328-340.
- Mosqueda-Melgar, J.; Raubaudy-Massilia, R.M.; Martín-Belloso, O. (2008b). Inactivation of *Salmonella enterica* ser. Enteritidis in tomato juice by combining of high-intensity pulsed electric fields with natural antimicrobials. *Journal of Food Science*, 73, M47-M53.
- Noci, F.; Riener, J.; Walkling-Ribeiro, M.; Cronin, D.A.; Morgan, D.J.; Lyng, J.G. (2008). Ultraviolet irradiation and pulsed electric fields (PEF) in a hurdle strategy for the preservation of fresh apple juice. *Journal of Food Engineering*, 85, 141-146.
- Nguyen, P.; Mittal, G.S. (2007). Inactivation of naturally occurring microorganisms in tomato juice using pulsed electric field (PEF) with and without antimicrobials. *Chemical Engineering and Processing*, 46, 360-365.

- Odriozola-Serrano, I.; Aguiló-Aguayo, I.; Soliva-Fortuny, R.; Gimeno-Añó, V.; Martín-Belloso, O. (2007). Lycopene, vitamin C, and antioxidant capacity of tomato juice as affected by high-intensity pulsed electric fields critical parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 9036-9042.
- Odriozola-Serrano, I.; Soliva-Fortuny, R.; Martín-Belloso, O. (2008). Changes of health-related compounds throughout cold storage of tomato juice stabilized by thermal or high intensity pulsed electric field treatments. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 272-279.
- Pagán, R.; Esplugas, S.; Góngora-Nieto, M.M.; Barbosa-Cánovas, G.V.; Swanson, B.G. (1998) Inactivation of *Bacillus subtilis* spores using high intensity pulsed electric fields in combination with other food conservation technologies. *Food Science and Technology International*, 4, 33-44.
- Palaniappan, S.; Sastry, S. K. (1991). Electrical conductivity of selected juices: influences of temperature, solids content, applied voltage, and particle size. *Journal of Food Processing and Engineering*, 14: 247-260.
- Plaza, L.; Sánchez-Moreno, C.; Elez-Martínez, P.; De Ancos, B.; Martín-Belloso, O.; Cano, M.P. (2005). Effect of refrigerated storage on vitamin C and antioxidant activity of orange juice processed by high-pressure or pulsed electric fields with regard to low pasteurization. *European Food Research and Technology*, 223, 487-493.
- Pothakamury, U.R.; Monsalve-Gonzalez, A.; Barbosa-Cánovas, G.V.; Swanson, B.G. (1995). Inactivation of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in model foods by pulsed electric field technology. *Food Research International*, 28, 167-171.
- Qin, B.L.; Pothakamury, U.R.; Vega, H.; Martin, O.; Barbosa-Cánovas, G.V.; Swanson, B.G. (1995a). Food pasteurization using high-intensity pulsed electric fields. *Food Technology*, 49, 55-60.

- Qin, B.L.; Chang, F.J.; Barbosa-Cánovas, G.V.; Swanson, B.G. (1995b). Non-thermal inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in apple juice using pulsed electric fields. *Food Science and Technology-LWT*, 28, 564-568.
- Qiu, X.; Sharma, S.; Tuhela, L.; Jia, M.; Zhang, Q. (1998). An integrated PEIAC pilot plant for continuous nonthermal pasteurization of fresh orange juice. *Agricultural Engineering*, 41, 1069-1074.
- Raso, J.; Calderón, M. L.; Góngora, M.; Barbosa-Cánovas, G. V.; Swanson, B.G. (1998a). Inactivation of *Zygosaccharomyces bailii* in fruit juices by heat, high hidrostatic presure and pulsed electric fields. *Journal of Food Science*, 63, 1042- 1044.
- Raso, J.; Calderón, M. L.; Góngora, M.; Barbosa-Cánovas, G. V.; Swanson, B.G. (1998b). Inactivation of mold ascospores and conidiospores suspended in fruit juices by pulsed electric fields. *Food Science and Technology-LWT*, 31, 668-672.
- Riener, J.; Noci, F.; Cronin, D.A.; Morgan, D.J.; Lyng, J.G. (2008). Combined effect of temperature and pulsed electric fields on apple juice peroxidase and polyphenoloxidase inactivation. *Food Chemistry*, 109, 402-407.
- Rodrigo, D.; Barbosa-Cánovas, G.V.; Martínez, A.; Rodrigo, M. (2003a). Weibull distribution function based on an empirical mathematical model for inactivation of *Escherichia coli* by pulsed electric fields. *Journal of Food Protection*, 66, 1007-1012.
- Rodrigo, D.; Barbosa-Cánovas, G.V.; Martínez, A.; Rodrigo, M. (2003b). Pectin methyl esterase and natural microflora of fresh mixed orange and carrot juice treated with pulsed electric fields. *Journal of Food Protection*, 66, 2336-2342.
- Sánchez-Moreno, C.; Plaza, L.; Elez-Martínez, P.; De Ancos, B.; Martín-Belloso, O.; Cano, M.P. (2005). Impact of high-pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of orange

- juice in comparison with traditional thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4403-4409.
- Tracy, R. L. (1932). Lethal effect of alternating current on yeast cells. *Journal of Bacteriology*, 24, 423-438.
- Van Loey, A.; Verachtert, B.; Hendrickx, M. (2002). Effects of high electric field pulses on enzymes. *Trends in Food Science and Technology*, 12, 94-102.
- Yeom, H. W.; Streaker, C. B.; Zhang, Q. H.; Min, D. B. (2000a). Effects of pulsed electric fields on the activities of microorganisms and pectin methyl esterase in orange juice. *Journal of Food Science*, 65, 1359-1363.
- Yeom, H. W.; Streaker, C. B.; Zhang, Q. H.; Min, D. B. (2000b). Effects of pulsed electric fields on the quality of orange juice and comparison with heat pasteurization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4597-4605.
- Yeom, H.W.; Zhang, Q.H.; Chism, G.W. (2002). Inactivation of pectin methyl esterase in orange juice by pulsed electric fields. *Journal of Food Science*, 67, 2154-2159.
- Yin, Y.; Zhang, Q. H.; Sastry, S. K. (1997). High voltage pulsed electric field treatment chambers for the preservation of liquid food products. U.S. Patent nº 5,690,978.
- Zárate-Rodríguez, E.; Ortega-Rivas, E.; Barbosa-Cánovas, G.V. (2000). Quality changes in apple juice as related to nonthermal processing. *Journal of Food Quality*, 23, 337-349.
- Zhang, Q.; Monsalve-Gonzalez, A.; Qin, B.L.; Barbosa-Cánovas, G.V.; Swanson, B.G. (1994). Inactivation of *E. coli* and *S. cerevisiae* by pulsed electric fields under controlled temperature conditions. *Transactions of the ASAE*, 37, 581-587.

Zhang, Q.; Qin, B. L.; Barbosa-Cánovas, G. V.; Swanson, B. G.; Pedrow, P. D. (1996). Batch mode food treatment using pulsed electric fields. US Patent nº 5,549,041.

APLICACIONES DE LOS CAMPOS ELÉCTRICOS PULSANTES DE ALTA INTENSIDAD (PEAI) EN BEBIDAS CON LECHE Y ALIMENTOS INFANTILES

Pina Pérez, M.C.

Departamento Conservación y Calidad
Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos
Apdo. Correos 73. Paterna (Valencia)
Correo electrónico: conpip@iata.csic.es

Resumen

En las últimas décadas se ha despertado un creciente interés hacia los campos eléctricos pulsantes de alta intensidad, debido, probablemente, a un mayor perfeccionamiento de la tecnología y, sobre todo, al auge de los alimentos mínimamente procesados. El uso de pulsos eléctricos de alta intensidad (PEAI) constituye una buena alternativa a los tratamientos térmicos convencionales para una gran variedad de alimentos líquidos, entre ellos, el huevo, leche y productos lácteos líquidos. El tratamiento por PEAi podría suponer una alternativa a la pasteurización térmica en todos los productos comentados, ya que supone una ventaja en cuanto a la menor pérdida de sabor y nutrientes, desde el punto de vista de la calidad, y garantiza la seguridad de estos productos, desde el punto de vista microbiológico. En fórmulas infantiles, la aplicación de PEF, tiene muy buenas perspectivas en el tratamiento de leche, tanto a nivel hospitalario, para la alimentación nasogástrica de bebés prematuros o inmunocomprometidos.

INTRODUCCIÓN

A principios del siglo XX se comenzó a estudiar la viabilidad de los tratamientos mediante electricidad para la higienización de la leche (Sale and Hamilton, 1967). En aquellos años se llegaron a procesar mediante esta tecnología cantidades importantes de leche que fueron destinadas al consumo humano sin perjuicio para la salud del consumidor.

En las últimas décadas se ha despertado un creciente interés hacia los PEAI, debido, probablemente, a un mayor perfeccionamiento de la tecnología y, sobre todo, al auge de los alimentos mínimamente procesados.

El uso de pulsos eléctricos de alta intensidad (PEAI) constituye una buena alternativa a los tratamientos térmicos convencionales para una gran variedad de alimentos líquidos, entre ellos, el huevo, leche y productos lácteos líquidos. Estos productos son importantes no solo para su consumo directo, sino como ingredientes para la fabricación de otros muchos alimentos, platos pre-cocinados, productos de fermentación, pastelería, etc. Por tanto el correcto tratamiento de materias primas básicas como la leche o el huevo, repercutirá en las mejores características organolépticas, nutricionales e higiénicas de los productos elaborados a partir de ellas. Esta tecnología, en un futuro, podría constituir una alternativa a la pasteurización tradicional.

Productos líquidos de origen vegetal, como zumos y purés, y animal, como leche y huevo, son tratados con éxito mediante la tecnología de los PEAI. Son muchos los estudios realizados a nivel de caracterización físico-química de los productos tratados por PEAI para diversas condiciones de tratamiento, combinaciones de intensidad de campo (E , kV/cm) y tiempos de tratamiento (t , μ s), consiguiendo productos tratados, con una calidad semejante a la del alimento fresco. A esto hay que añadirle la consecución de niveles de seguridad microbiológica asimilables a los obtenidos por pasteurización.

Son muchos los productos fabricados con base láctea: bebidas, yogures, helados, nata, y quesos, entre otros. La preparación de bebidas lácteas y postres helados resulta atractiva para la industria ya que cada día se conoce más a cerca de las propiedades funcionales de diversos ingredientes y su impacto en la textura y estructura de estos productos, lo que permite a la industria lanzar al mercado productos más y más innovadores. Batidos de chocolate, fresa, plátano, bebidas lácteas con café, son cada vez más populares para los consumidores. Estos alimentos son interesantes porque van dirigidos a una extensa variedad de clientes, entre los cuales, los niños representan un sector importante. Por ejemplo, la industria de los helados utiliza aproximadamente el 10% del total de la leche producida.

Hoy en día se puede encontrar en el mercado una amplia variedad de bebidas a base de zumo de frutas y leche, mínimamente procesadas y almacenadas en refrigeración que responden a una demanda creciente por parte de los consumidores de alimentos con características cercanas a los frescos. La fabricación y consumo de productos mezcla de leche y zumos de frutas (naranja, mango, zanahoria, etc) fortificados con vitaminas, minerales y fibra ha experimentado un crecimiento del 30% en los últimos 10 años, respondiendo a los consumidores preocupados por una alimentación sana y natural. Este incremento en producción y consumo se apoya en la posibilidad tecnológica de llevar a cabo tratamientos no demasiado severos, que permitan obtener productos seguros microbiológicamente, sin afectar las propiedades y la calidad del alimento, que en este caso son de interés especial para el consumidor.

El huevo es un alimento de gran valor nutritivo que de forma natural se encuentra protegido de la contaminación exterior gracias a su cáscara (Instituto Estudios del Huevo, 2004). El huevo aporta además de su valor nutritivo, una amplia gama de propiedades funcionales que son necesarias para los procesos de fabricación de muchos alimentos y por las que este

producto se ha convertido en ingrediente esencial de gran variedad de alimentos preparados.

El uso de huevo líquido como sustituto de los huevos frescos enteros requiere de un minucioso tratamiento tal que se consiga la inactivación de los microorganismos patógenos contaminantes del mismo. Entre los principales microorganismos contaminantes de huevo líquido pre y/o post-procesado, podemos destacar *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* y *Listeria spp.*

El tratamiento térmico aplicado al huevo batido consiste en una pasteurización a 60°C durante 3min para obtener un producto estable y microbiológicamente seguro. Sin embargo, la pasteurización aunque eficaz microbiológicamente, provoca la pérdida de calidad con respecto al producto fresco. Pérdida de viscosidad, pérdida de capacidad espumante, gelificación.

Actualmente en el mercado existe una amplia variedad de productos especialmente diseñados y fabricados para niños menores de un año. Estos productos poseen composiciones especialmente orientadas a satisfacer sus necesidades. Los niños son conocidos como parte de la población especialmente vulnerable a contraer infecciones de origen alimentario, por lo que la seguridad microbiológica de estos productos es de fundamental importancia (Muytjens y Kollee, 1990).

La aplicación de PEAI resulta influenciada por factores de proceso (intensidad de campo, tiempo de tratamiento, amplitud de pulso), factores de microorganismo (tipo de microorganismo, fase de crecimiento, formación de esporas, etc), y factores de producto (a_w , pH, composición). Sea cual sea el producto a tratar deberemos considerar siempre la composición del citado producto, la posible flora contaminante que suponga un riesgo para la calidad del producto o la salud del consumidor, y en base a ello definiremos las condiciones de tratamiento que sean idóneas para el caso en estudio.

PEAI EN LECHE

La leche es una buena fuente de nutrientes y de energía, no sólo utilizables por los mamíferos sino también por muchos microorganismos que son capaces de crecer en ella, fundamentalmente bacterias. La leche contiene una gran variedad de nutrientes distintos (76% agua, 3.4 % grasa, 3.7% proteína, 4.8% caseína, además de sales minerales, y vitaminas), y muchas de las especies bacterianas encuentran en ella suficientes materias primas para la fermentación y el crecimiento. El resultado es bien conocido: la leche cruda se altera rápidamente a temperatura ambiente.

La mayoría de los microorganismos son indeseables en la leche, bien porque son patógenos o porque pueden producir enzimas cuya acción origina transformaciones indeseables en la leche. La pasteurización garantiza la seguridad y prolonga considerablemente la vida útil del producto. Un tratamiento térmico suave, por ejemplo, de 15 s a 72°C, destruye todos los microorganismos patógenos que puedan encontrarse en la leche: especialmente, *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella spp.*, coliformes enteropatógenos, *Campylobacter jejuni*, y *Listeria monocytogenes*, hasta niveles que no supongan ningún riesgo para la salud. La mayoría de los microorganismos alterantes que contiene la leche cruda, como bacterias lácticas mesófilas y psicrótrofos, también son destruidos en la pasteurización, excepto micrococcus termorresistentes, estreptococos termófilos y esporos bacterianos, como *Bacillus cereus*.

Los avances en leche tratada por PEAi, han sido llevados a cabo con éxito en la inactivación de gran variedad de microorganismos, siempre en células vegetativas. En esporulados únicamente es posible obtener resultados satisfactorios mediante la aplicación de tecnologías combinadas "hurdle technology": calor, PEAi, antimicrobianos, HHP, etc. Consiguiendo en una primera etapa la germinación de las esporas para después conseguir la inactivación de las células vegetativas. Un tratamiento de

pasterización seguido de PEAI puede llegar a aumentar la vida útil de la leche hasta 60 días

Diversos estudios han sido llevados a cabo en los últimos años, tanto para microorganismos patógenos (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Listeria spp.* y *Bacillus cereus*, entre otros) como alteradores (*Pseudomonas fluorescens*, *Lactobacillus plantarum*) en leche. Las intensidades de campo oscilan entre 10 y 40 kV/cm y los tiempos de tratamiento entre 60 y 2000 μ s.

En *Staphylococcus aureus* se ha observado el efecto sinérgico de la aplicación de PEAI en leche desnatada y la adición de antimicrobianos naturales tales como la nisina o la lisozima. Se observan valores de inactivación en torno a 4 ciclos logarítmicos para $E = 35$ kV/cm y $t = 1200\mu$ s (Sobrino & Belloso, 2008).

Tratamientos en *Salmonella spp.* en leche para intensidades de campo de 35 a 40 kV/cm y tiempos de tratamiento de 100 a 300 μ s, permiten reducir 5 ciclos logarítmicos la población inicial (Dunn and Pearlman, 1987). El producto se mantiene sin crecimiento posterior tras almacenamiento 8 días, siempre que se mantenga en refrigeración a temperatura entre 7 y 10°C. En cuanto a la calidad, no se observaron pérdidas de flavor, y la leche permanece estable física y químicamente tras el almacenamiento.

Para *Escherichia coli* tratado a intensidades de campo de 30 a 40 kV/cm y tiempos de tratamiento cortos $t = 60-200\mu$ s, se observan niveles de inactivación de 3-4 ciclos logarítmicos y se consigue prolongar la vida útil de la leche en 2 semanas sin cambios apreciables ni crecimiento microbiano, siempre que se mantenga en refrigeración durante el almacenamiento (Fernandez-Molina and others, 1999).

Listeria innocua y *Pseudomonas fluorescens* son, respectivamente, patógeno y alterador en leche. Estudios realizados con ambos microorganismos en leche desnatada permiten obtener niveles de

inactivación de 3 ciclos logarítmicos para tratamientos de 50 kV/cm $t = 50\text{-}200\mu\text{s}$ en *Listeria innocua*, y en torno a 2.7 ciclos en las mismas condiciones en el caso de *Pseudomonas fluorescens*. Estudios recientes proponen intensidades de campo más bajas, en torno a 30-35 kV/cm para un tiempo de tratamiento de $200\mu\text{s}$, consiguiendo 2.2 ciclos logarítmicos de reducción para *Pseudomonas fluorescens* (Michalac, y col., 2003). Se pueden obtener hasta 4 ciclos logarítmicos con tratamientos que utilizan intensidades de campo más suaves y tiempos de tratamiento algo más elevados (22 kV/cm, $300\mu\text{s}$).

Bacillus cereus es capaz de germinar a temperaturas de refrigeración (5 a 10°C) y crecer con un tiempo de generación (t_g) de 10 horas cuando la temperatura es de 7°C . Si este microorganismo está presente en la leche, podría germinar en refrigeración, tras la pasteurización, con el riesgo que ello supone. Esta bacteria esporulada es patógena cuando se encuentra en elevada concentración en la leche, lo cual puede suceder en relativamente poco tiempo atendiendo al tiempo de generación, sin embargo, antes de alcanzar la dosis infectiva la leche resulta afectada por una clara alteración del flavor (10^6 ufc/ml).

Niveles de inactivación en torno a 3.0 ciclos logarítmicos se han conseguido para células vegetativas de *Bacillus cereus* en leche desnatada tratada por PEAI para intensidades de campo de 35 kV/cm y $t = 200\mu\text{s}$ (Cserhalmi y col., 2002). Según recientes estudios, resultados equivalentes pueden obtenerse utilizando intensidades más bajas y tiempos de tratamiento ligeramente superiores (25 kV/cm, $1000\mu\text{s}$) (Pina y col., 2008).

PEAI EN BEBIDA MEZCLA DE LECHE Y ZUMO

La tecnología de pulsos eléctricos de alta intensidad (PEAI) puede aplicarse a este tipo de productos ya que modifica mínimamente las

características originales del alimento pudiendo inactivar al mismo tiempo enzimas y microorganismos.

Estudios recientes sobre los efectos de PEAI en microorganismos patógenos y alteradores en bebidas mezcla de zumo y leche ofrecen resultados prometedores en cuanto a su potencial aplicación industrial. Entre todos los estudios realizados nos centraremos en los llevados a cabo en una nueva bebida preparada a base de zumo de naranja pasteurizado congelado, leche desnatada UHT agua, pectina y azúcar. Se utilizaron como patógenos para el estudio: *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*, ambos en fase estacionaria. El tratamiento con PEAI se realizó con un equipo OSU-4D, continuo, 8 cámaras, onda cuadrada bipolar. Para *Salmonella typhimurium* se utilizaron las siguientes condiciones de tratamiento: E (intensidad de campo) 15 y 40 kV/cm, t (tiempo) entre 60 y 2500 μ s, W (anchura de pulso) 2.5 μ s, y flujo de 30 ml/min. Se utilizaron diferentes concentraciones de pectina (0.1, 0.3 y 0.6 %) en la preparación de la bebida, así como diferentes valores de pH (3.5, 4, 4.5). Se obtuvo una inactivación máxima de 2 ciclos logarítmicos para un tratamiento con intensidad de campo eléctrico de 40 kV/cm tiempo de 360 μ s y pH=3.5. Se observó como las características del sustrato, en este caso, el valor de pH, ejercen un efecto significativo sobre la inactivación, siendo ésta mayor, para valores de pH más bajos (mayor acidez del sustrato) (Sampedro y col., 2006).

Estudios realizados con *Escherichia coli* en la misma bebida, utilizando intensidades de campo eléctrico entre 15 y 40 kV/cm, y tiempos de tratamiento entre 0 y 700 μ s permiten niveles de inactivación de 3.83 ciclos logarítmicos cuando las condiciones de tratamiento coinciden concretamente con E = 15 kV/cm, t = 700 μ s (Rivas y col., 2006).

Para microorganismos alteradores como *Lactobacillus plantarum* en la misma bebida se obtienen niveles de inactivación máxima de 2.12 ciclos logarítmicos para E = 40kV/cm, t = 1300 μ s (Sampedro y col., 2007)

PEAI EN HUEVO

Entre los microorganismos de interés en huevo destacan *Salmonella enteritidis*, *L. innocua*, *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens*, y *Bacillus cereus*. Los estudios realizados en este producto adquieren interés en un período relativamente reciente (1999-2004). Posiblemente coincidiendo con la demanda por parte del consumidor de productos preparados, listos para tomar, debido a los nuevos hábitos alimenticios, condicionados por la falta de tiempo. Los tratamientos por PEF aplicados en huevo oscilan entre 20-50 kV/cm y tiempos de tratamiento <200 μ s. En general se utilizan los PEAi combinados con antimicrobianos (lisozima, ácido cítrico, nisina) (Calderón-Miranda y col., 1999; Góngora-Nieto y col., 1999) ó temperaturas suaves en torno a 30-60 °C (Bazhal y col., 2006; Hermawan y col., 2004).

Los resultados a nivel microbiológico conseguidos en huevo líquido permiten reducir los niveles de *Salmonella enteritidis* en 3.5 ciclos logarítmicos con intensidades de campo de 20-35 kV/cm, y tiempos de tratamiento de 100-900 μ s, sin embargo, a diferencia del tratamiento térmico equivalente (55 °C, 15 min), no se observó desnaturalización de las proteínas cuando el huevo líquido fue tratado por PEAi (Amiali, y col., 2006).

PEAI EN UNA BEBIDA MEZCLA DE HUEVO Y LECHE

Bacillus cereus es un microorganismo aerobio esporulado cuyas esporas son altamente resistentes a tratamientos térmicos y a la reducción del valor de la actividad de agua (a_w) en los alimentos, induciendo la germinación y crecimiento de las células vegetativas en estas condiciones. Es precisamente la resistencia al tratamiento térmico, su capacidad de formar esporas, y su carácter psicrótrofo (tiempo generación: 10 h, a 7°C), lo que hacen de él un microorganismo de interés en productos tan variados

como leche, productos lácteos, cárnicos, productos de pastelería, purés vegetales, pastas, ovoproductos, hierbas y especias (Abdou, 2007).

Estudios realizados recientemente en una bebida mezcla de leche desnatada UHT (80% v/v) y huevo líquido pasteurizado (20% v/v) muestran niveles de inactivación de entre 2.76 a 3.26 ciclos logarítmicos para *Bacillus cereus* cuando se aplican condiciones de tratamiento por PEAI de $E = 15$ kV/cm, 1900 μ s y 35 kV/cm, 200 μ s, respectivamente (Pina et al., 2008).

Las figura 1 y 2 muestran los gráficos de supervivencia durante el almacenamiento (0, 5, y 15 días) a 5°C, de células de *Bacillus cereus* tratadas por PEAI en la bebida.

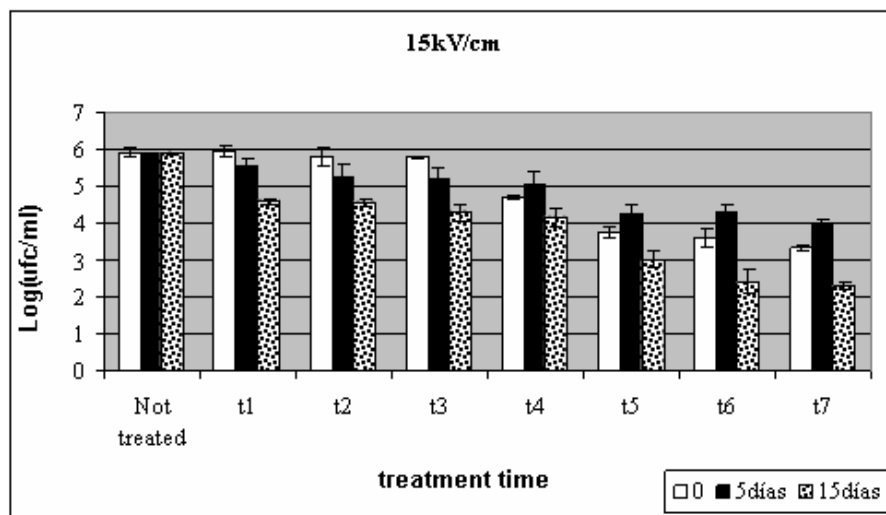


Figura 1. Gráfico de supervivencia de células vegetativas de *Bacillus cereus* durante el almacenamiento a 5°C para intensidad de campo de 15 kV/cm y tiempos de tratamiento que oscilan entre 60 y 1000 ms. Las barras de error han sido obtenidas para tres replicas.

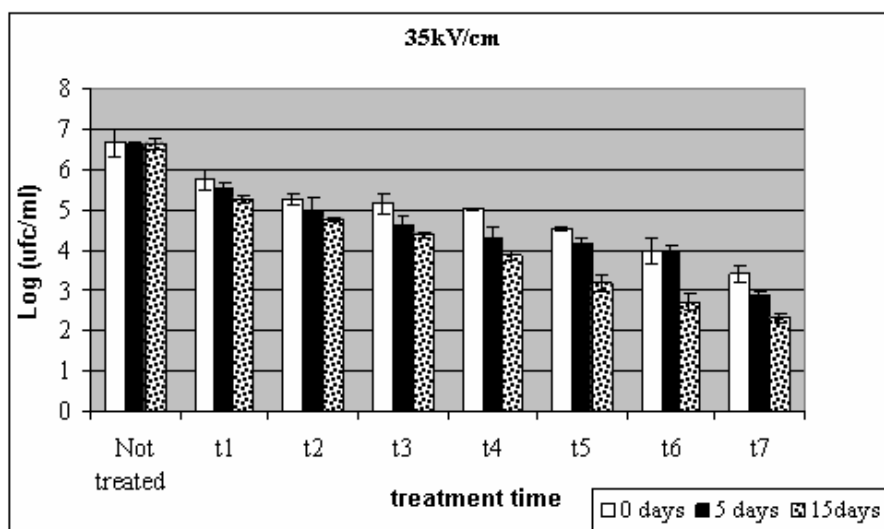


Figura 2. Gráfico de supervivencia de células vegetativas de *Bacillus cereus* durante el almacenamiento a 5°C para intensidad de campo de 35 kV/cm y tiempos de tratamiento que oscilan entre 60 y 1000 ms. Las barras de error han sido obtenidas para tres replicas.

PEAI EN FÓRMULA INFANTIL RECONSTITUIDA

Las fórmulas infantiles son utilizadas como substitutos a la alimentación natural de la madre, cuando ésta no se puede llevar a cabo debido a diversas causas. Las fórmulas infantiles son productos alimenticios diseñados para suplir las necesidades nutricionales de los bebés. Existen fórmulas orientadas a cubrir necesidades especiales de los bebés, como intolerancia a la lactosa, formulas de continuación, para bebés mayores de 6 meses; fórmulas o leches maternizadas que pueden variar en densidad calórica, composición nutricional e ingredientes, digestibilidad, sabor y coste. Por la forma de presentación podemos encontrar fórmulas en polvo, alimentos concentrados y fórmulas líquidas listas para tomar.

La Academia Estadounidense de Pediatría (*American Academy of Pediatrics*) suministra las pautas para las fórmulas infantiles y los estándares para la alimentación normal de los bebés en base a la composición de la leche materna humana.

Enterobacter sakazakii es un patógeno emergente de interés por su reciente implicación en casos de meningitis neonatal en bebés alimentados con fórmula infantil re-hidratada, presentando tasas de mortalidad entre el 40 y 80%. Afecta sobretudo a bebés prematuros de bajo peso (< 2500g)

Los estudios relativos a la aplicación de PEAi en la inactivación de microorganismos en fórmulas infantiles son todavía escasos.

La Inactivación de *Enterobacter sakazakii* (CECT 858) ha sido estudiada en fórmula infantil re-hidratada (Infant Fórmula Milk, IFM) y en medio de referencia, agua de peptona tamponada (Buffered Peptone Water, BPW). Los estudios se llevaron a cabo para 4 intensidades de campo: 10, 20, 30, 40 kV/cm y 7 tiempos de tratamiento para cada campo: desde 60 μ s hasta 4000 μ s. Se observó una relación positiva entre la intensidad de campo aplicada y la inactivación conseguida, en ambos sustratos. Los resultados ponen de manifiesto que la inactivación conseguida es mayor en medio de referencia que en IFM. Ello es debido al efecto protector que algunos autores atribuyen a componentes del alimento, como en este caso el contenido en grasa y proteínas de la leche, frente a la inactivación por PEAi (Reina et al., 1998). En cuanto al máximo nivel de inactivación conseguido fue de 2.7 ciclos logarítmicos en BPW y 2.4 ciclos en IFM para $E = 40$ kV/cm y $t = 360$ μ s. En la figura 3 se muestran los diferentes niveles de inactivación conseguidos para fórmula infantil.

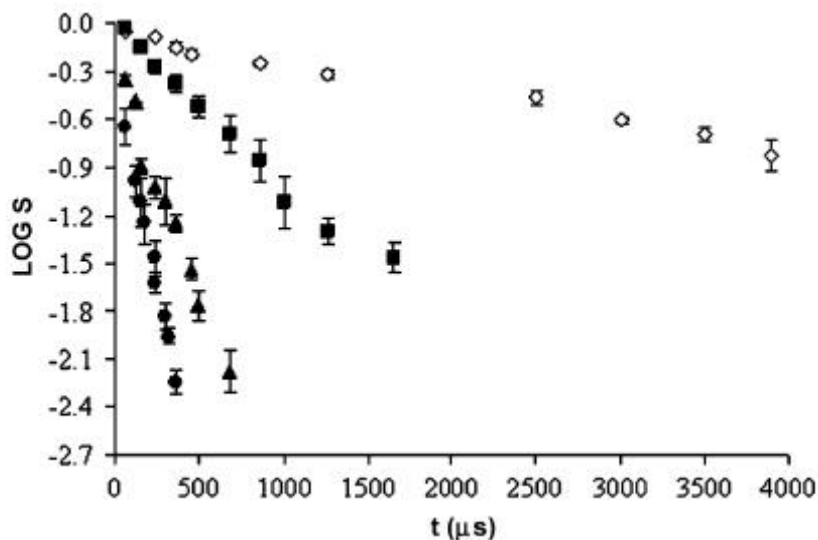


Figura 3. Curvas de inactivación por PEF de *Enterobacter sakazakii* en IFM: ◇ 10 kV/cm; ■ 20 kV/cm; ▲ 30 kV/cm; ● 40 kV/cm. Puntos experimentales y barras de error obtenidas a partir de 5 replicas para cada condición de tratamiento.

CONCLUSIONES

El tratamiento por PEF podría suponer una alternativa a la pasteurización térmica en todos los productos comentados, ya que supone una ventaja en cuanto a la menor pérdida de sabor y nutrientes, desde el punto de vista de la calidad, y garantiza la seguridad de estos productos, desde el punto de vista microbiológico.

En fórmulas infantiles, la aplicación de PEF, tiene muy buenas perspectivas en el tratamiento de leche, tanto a nivel hospitalario, para la alimentación naso-gástrica de bebés prematuros o inmunocomprometidos (Pina y col., 2007); como a nivel industrial, ya que las *Enterobacteriaceae* se encuentran frecuentemente en productos lácteos y formulas infantiles en bajos niveles, desde unas pocas células/g a 100 ufc/g.

REFERENCIAS

- Abdou, A; Higashiguchi, S; Aboueleinin, A; Kim, M; Ibrahim, H. 2007. Antimicrobial peptides derived from hen egg lysozyme with inhibitory effect against *Bacillus* species. Food Control, 18: 173-178.
- Amiali, M., Ngadi, MO., Smith, J.P., Raghavan, G.S.V. 2006. Inactivation of *Escherichia coli* 0157: H7 and *Salmonella enteritidis* in liquid egg white using pulsed electric field. Journal of Food Science 71 (3): M88-M94.
- Bazhal M.I., Ngadi M.O., Raghavan G.S.V., and Smith J.P. 2006. Inactivation of *Escherichia coli* 0157:H7 in liquid whole egg using combined pulsed electric field and thermal treatments. LWT-Food Science and Technology 39: 419-425.
- Cserhalmi, Zs., Vidáes, I., Beczner, J., & Czukor, B. 2002. Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus cereus* by pulsed electric fields technology. Innovative Food Science & Emerging technologies 3: 41-45.
- Duna, J.E. & Pearlman, S. 1987. Methods and apparatus for extending the shelf life of fluid food products. U.S. patent 4,695,472.
- Fernández-Molina, J.J., Altunakar, B., Bermúdez-Aguirre, D., Swanson, B.G., & Barbosa-Cánovas, G.V. 2005. Inactivation of *Pseudomonas fluorescens* in skim milk by combinations of pulsed electric fields and organic acid. Journal of Food Protection: 68: 1232-1235.
- Calderón-Miranda, M.L., Barbosa-Cánovas, G.V., Swanson B.G. 1999. Inactivation of *Listeria innocua* in liquid whole egg by pulsed electric fields and nisin. International Journal of Food Microbiology 51(1): 7-17.
- Góngora-Nieto M.M., Pedrow P.D., Swanson B., and Barbosa-Cánovas G.V. 2003. Energy análisis of liquid whole egg pasteurized by pulsed electric fields. Journal of Food Engineering 57(3): 209-216.

- Hermawan, N., Evrendilek, G.A., Dantzer, W.R., Zhang, Q.H., Ritcher, E.R. 2004. Pulsed electric field treatment of liquid whole egg inoculated with *Salmonella enteritidis*. *Journal of Food Safety* 24(1): 71-85.
- Michalac, S., Álvarez, V., and Zhang, Q.H. 2003. Inactivation of selected microorganisms and properties of pulsed electric field processed milk. *Journal of food processing Preservation* 21, 137-151.
- Muytjens, H. L., & Kollee, L. A. (1990). *Enterobacter sakazakii* meningitis in neonates: Causative role of formula? *Pediatric Infectious Disease Journal*, 9, 372–373.
- Pina Pérez, M.C., Rodrigo Aliaga, D., Ferrer Bernat, C., Rodrigo Enguidanos, M., and Martínez López, A. 2007. Inactivation of *Enterobacter sakazakii* by pulsed electric field in buffered peptone water and infant formula milk. *International Dairy Journal* 17 (2007) 1441–1449
- Pina M.C., Silva, A., Rodrigo, D., Martínez, A. 2008. Dpto Conservación y Calidad. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. 2008.
- Reina, L. D., Jin, Z. T., Zhang, Q. H., & Youself, A. E. (1998). Inactivation of *Listeria monocytogenes* in milk by pulsed electric field. *Journal of Food Protection*, 61, 1203–1206.
- Rivas, A., Sampedro, F., Rodrigo, D., Martínez, A., & Rodrigo, M. (2006). Nature of the inactivation of *E. coli* suspended in an orange juice and milk beverage. *European Food Research and Technology*, 223, 541–545.
- Sale, A. J. H. and Hamilton, W. A. 1967. Effects of high electric fields on microorganisms I. Killing of bacteria and yeast. *Biochim Biophys Acta*. 148:781-788
- Sampedro, F., Rodrigo, D., Martínez, A., Rodrigo, M. 2006. Effect of pH and pectin concentration in the inactivation of *Salmonella typhimurium* in an orange-juice and milk beverage. I Congreso iberoamericano

sobre seguirar alimentaria: “de la granaja a la mesa, ida y vuelta”.
CIBSA. Sevilla, España.

Sampedro, F., Rodrigo, D., Martínez, A., Barbosa-Cánovas, G.V., Rodrigo, M. 2006. Review: application of pulsed electric fields in egg and egg derivatives. Food Science and Technology international 12 (5): 397-406.

Sampedro F., Rivas A., Rodrigo D., Martínez A., Rodrigo M. 2007. Pulsed electric fields inactivation of *Lactobacillus plantarum* in an orange juice-milk based beverage: Effect of process parameters. Journal of food engineering, vol. 80, nº3, pp. 931-938.

Sobrino, A., nad Martín-Belloso, O. 2008. Enhancing the lethal effect of high-intensity pulsed electric field in milk by antimicrobial compounds as combined hurdles. Journal of Dairy Science: 91: 1759-1768.

Walstra, P., Geurts, T.J., Normen, A., Jellema, A., & van Boeckel, M.A.J.S. 2002. Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos. I.S.B.N.: 84-200-0961-X. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España).

