



Aplicaciones del ultrasonido en el tratamiento de alimentos

J. Gómez – Díaz * y A. López – Malo

*Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Universidad de las Américas Puebla.
San Andrés Cholula, Pue., México*

Resumen

El empleo de métodos alternativos al tratamiento térmico para la conservación de alimentos, con el uso de las denominadas tecnologías emergentes, ha logrado mayor auge actualmente. Las tecnologías en alimentos buscan satisfacer las necesidades del consumidor por obtener productos frescos y con características nutrimentales y de inocuidad adecuadas. El empleo de ondas ultrasónicas aplicadas directamente al alimento, mejora sus propiedades y garantiza la seguridad del producto. El presente artículo proporciona información sobre diversas aplicaciones del ultrasonido de alta intensidad en alimentos, como un método seguro y conveniente, enfatizando sus efectos al homogenizar, encapsular, inactivar o inhibir distintos componentes que se encuentran como parte de la matriz alimenticia. Con este conocimiento se podrá considerar al ultrasonido como una tecnología viable, atrayendo el interés de su aplicación en la ciencia y tecnología de alimentos, tanto en el análisis como en la modificación de sus propiedades, aportando beneficios durante su procesamiento y conservación.

Palabras clave: Ultrasonido, cavitación, inactivación enzimática, inhibición microbiana.

Abstract

The use of alternative methods to heat treatment, have been applied to food preservation, with the so called emerging technologies, has showed a major improvement nowadays. Food technologists are looking to satisfy the consumer demands of having freshness and nutritional components in food, being innocuous at the same time. The use of high intensity ultrasound, applied to food, guarantees the development of wished food properties, assuring the consumer's safety. This paper gives information about the mechanism of high intensity ultrasound applications in food industry, as a safety and convenient method, focusing on the effects of homogenization, encapsulation, inactivation or inhibition of different kinds of components presents in the food matrix. With this knowledge, ultrasound will be considered as a proper technology, gaining the interest for its application in science development and food technology research, as an analysis technique and for food properties modification, obtaining good results on processing and conservation of food.

Keywords: Ultrasound, cavitation, enzyme inactivation, microbial inhibition.

* Programa de Doctorado en Ciencia de Alimentos
Tel.: +52 222 229 2126, fax: +52 222 229 2727
Dirección electrónica: juan.gomezdz@udlap.mx

Introducción

La creciente demanda de productos con aspecto fresco, ha promovido el empleo de métodos alternativos de conservación, que además no modifiquen los componentes intrínsecos del alimento. El consumo de alimentos sanos ha sido un tema de interés, sobre todo aquellos que garanticen la inocuidad, las características nutrimentales y los aspectos sensoriales del mismo. El ultrasonido se define como la energía generada por ondas sónicas de 20 kHz o más vibraciones por segundo (Hoover, 2000). El empleo del ultrasonido de alta intensidad o también conocido como de poder o de baja frecuencia, ha demostrado ser una tecnología emergente viable para el tratamiento de alimentos, promoviendo la homogenización y la emulsificación de sus ingredientes, la conservación al inactivar enzimas responsables del deterioro fisicoquímico, el mejoramiento de la calidad sensorial y prolongar la vida útil de los productos al inhibir el crecimiento microbiano (Mason *et al.*, 2005). Por otro lado, promueve reacciones de oxidación, ayuda en los procesos de difusión, así como en la modificación de la cristalización (López-Malo *et al.*, 2005).

Desde el punto de vista de conservación de alimentos, es de interés el ultrasonido de baja frecuencia, por obtener cambios físicos y químicos deseables en el producto, con los intervalos de frecuencia de 20 a 100 kHz (niveles de potencia de 10 a 1000 W/cm²), por medio del fenómeno de cavitación (McClements, 1995). En la industria alimenticia, el ultrasonido se utiliza tradicionalmente en la homogenización de emulsiones, la ruptura de células, la limpieza de material, la dispersión de sólidos, la remoción de gases disueltos en medios líquidos, entre otros.

Se ha demostrado su efecto inhibidor sobre el crecimiento de esporas microbianas resistentes al calor, al tratar las muestras con la combinación de ultrasonido, presión y temperatura, lo que se denomina manotermosonicación (MTS) (Vercet *et al.* 1999; Condón *et al.*, 2005).

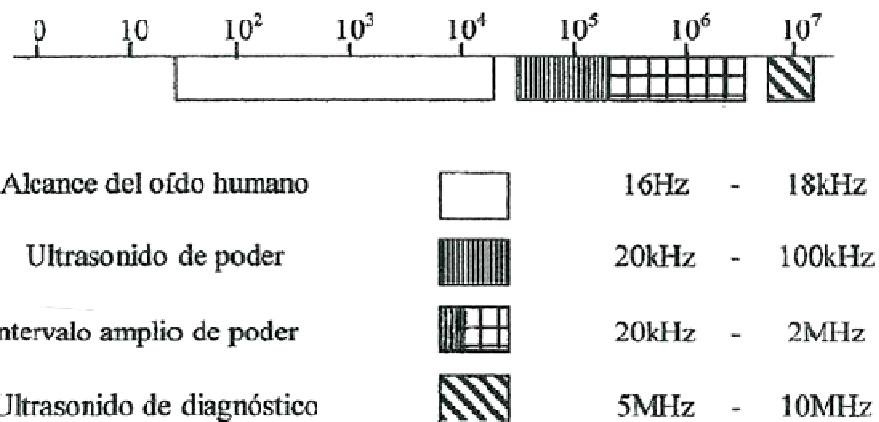
Derivado de lo anterior, el presente artículo surge como una referencia para entender el empleo del ultrasonido en temas como extracción de aceites esenciales, inactivación enzimática y microbiana, mejoramiento de los procesos de congelación y descongelación, entre otros. En este trabajo se citan investigaciones de diversas áreas tecnológicas que han utilizado al ultrasonido de baja frecuencia o de poder, como una alternativa para mejorar el tratamiento de alimentos.

Dicha información se pone al alcance del público que cada vez se encuentra más interesado en conocer de qué están constituidos sus alimentos, su forma de procesamiento y cómo prevenir enfermedades al consumir productos inocuos.

Revisión bibliográfica

1. Definición

El ultrasonido consta de ondas elásticas cuya frecuencia se transmite sobre el umbral del oído humano (aproximadamente 20 kHz) (Mason *et al.*, 2005). Se pueden distinguir tres tipos de ondas: longitudinales, que se desplazan en el sentido del ordenamiento de las partículas; ondas tipo esquileo, que se mueven de forma perpendicular a tal ordenamiento; y las tipo Rayleigh, que viajan muy cercanas a la superficie (Mulet *et al.*, 2002).

**Fig. 1. Intervalos de frecuencia del sonido (Mason *et al.*, 2005)**

Desde el punto de vista industrial, el ultrasonido se puede dividir en dos grandes grupos: Ultrasonido de alta intensidad (UAI) y el ultrasonido de baja intensidad (UBI). El UAI es usado para modificar procesos o productos, mientras que el UBI se aplica para el diagnóstico (Condón *et al.*, 2005).

La absorción de la energía acústica es especialmente importante en alimentos, debido al contenido de aire y a la bien lograda estructura que algunos productos poseen. Las frecuencias altas son más fácilmente atenuadas que las bajas, de ahí que el UAI es aplicado a bajas frecuencias (20-100 kHz) para obtener “niveles de poder altos” ($10-1000 \text{ W/cm}^2$), por lo que se le conoce como ultrasonido de poder. Por otro lado, el UBI, utiliza frecuencias mayores (250 kHz a 1 MHz o superiores) para garantizar una adecuada resolución, pero a “niveles de poder bajos”, típicamente menores a 1 W/cm^2 (Torley y Bhandari, 2007).

Desde el punto de vista de la conservación de alimentos el ultrasonido de interés es el denominado de poder o de alta intensidad (UAI) (Fig. 1) (Mason *et al.*, 2005); se presentan cambios físicos y químicos dando lugar a la cavitación,

fenómeno que también provoca la inactivación microbiana (Piyasena *et al.*, 2002).

El UAI puede ser utilizado en la industria de alimentos para limpieza y desinfección al provocar la destrucción microbiana, así como la inactivación enzimática, favorecer reacciones químicas y la extracción de ciertos compuestos (López-Malo *et al.*, 2005).

2. Ondas y parámetros ultrasónicos

Las ondas ultrasónicas se definen por medio de distintos parámetros como la amplitud (A), definida como el valor máximo que toma una magnitud oscilante en un semiperiodo; el coeficiente de atenuación (α), el cual da el valor de la disminución de la amplitud de la onda a medida que viaja a través del material, generando un espaciamiento que se da generalmente en materiales heterogéneos; la velocidad ultrasónica (v), definida como la velocidad con la que la onda se propaga a través del medio, siendo mayor en sólidos que en fluidos y se puede determinar midiendo el tiempo que tarda la longitud de onda en viajar cierta distancia o midiendo la longitud de onda del ultrasonido a una determinada

frecuencia; la frecuencia (f), referida al número de oscilaciones o vibraciones de un movimiento por unidad de tiempo; la longitud de onda (λ), que es la distancia de dos partículas cualesquiera, que estén en la misma fase; y la impedancia acústica, que determina la fracción de la onda ultrasónica que es reflejada de la superficie. La influencia del medio en estos parámetros es la base de la mayoría de las aplicaciones del ultrasonido en alimentos y procesos alimenticios (McClements, 1995; Mulet *et al.*, 2002).

3. Mecanismo de acción del ultrasonido

Cuando una onda sónica se propaga en un medio líquido de forma longitudinal, se crean ciclos de compresión y expansión alternados. Cuando la presión negativa en el líquido, creada por el ciclo de expansión alternativo, es lo suficientemente menor para superar las fuerzas intermoleculares (fuerza de tensión), se forman pequeñas burbujas. Durante el subsecuente ciclo de expansión-compresión, las burbujas de gas se expanden y contraen simultáneamente. Esta formación y la evolución del tamaño de estas burbujas se conoce como cavitación. La fuerza de tensión en líquidos puros es muy alta y difícil de superar, sin embargo, la mayoría

de los líquidos contienen burbujas de gas que pueden actuar como núcleos de cavitación, aún cuando la presión negativa del proceso sea baja (Condón *et al.*, 2005).

Por ejemplo, la cavitación generada por UBI a partir de pequeñas burbujas, cuyo tamaño oscila poco durante los ciclos, se conoce como “cavitación estable”, ocasionando fuertes microcorrientes en el medio líquido, que actúan como ondas de choque (Mason, 1998). Esta cavitación tiene lugar cuando las ondas ultrasónicas son de alta frecuencia y de baja amplitud en un rango de presión desde 1 a 100 kPa (Condón *et al.*, 2005).

Los factores que afectan la cavitación son: las propiedades físicas del solvente, la temperatura, la frecuencia de irradiación, la presencia de gases disueltos, la limpieza del sistema de reacción, la frecuencia del ultrasonido, la presión hidrostática, la tensión superficial y la potencia de irradiación (Young, 1989).

En la Fig. 2 se muestran las modificaciones que sufren las burbujas de líquido durante la cavitación. La presión negativa durante el tratamiento causará un rompimiento en el medio líquido,

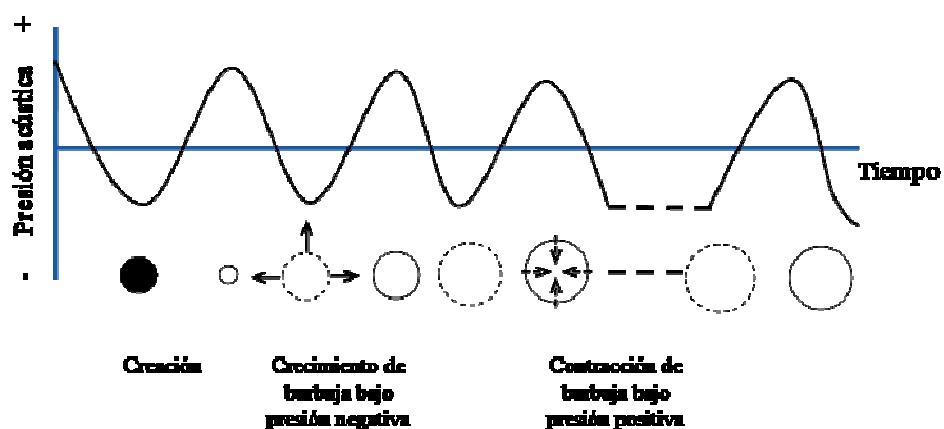


Fig. 2. Proceso de cavitación (Zheng y Sun, 2006)

provocando la formación de burbujas o cavitación. Durante la fase de presión negativa, las burbujas (incluyendo las presentes de forma inherente en el líquido), crecerán y crearán un vacío, causando la disolución de gases en el líquido.

A medida en que la fase negativa avanza, la presión se reduce hasta alcanzar la atmosférica, encogiendo las burbujas. Cuando el ciclo de compresión inicia y mientras existe presión positiva, el gas difundido en las burbujas es expelido en el líquido de nuevo, esta difusión gaseosa no se lleva a cabo hasta comprimir las burbujas. Una vez lograda la compresión, la superficie límite de la burbuja para difusión, disminuye, así que la cantidad de gas eliminada es menor a la introducida durante el ciclo negativo. Así las burbujas crecerán más en cada ciclo ultrasónico (Zheng y Sun, 2006).

4. Equipo usado en ultrasonido

Los equipos modernos ultrasónicos consisten en un generador eléctrico y un transductor. El generador produce pulsos de

energía de alto voltaje a la frecuencia establecida en el transductor, siendo éste el componente más importante del sistema (Mason, 1998). El transductor es movido por la potencia suministrada de un primer sistema a un segundo. El transductor genera el principio piezoelectrónico para convertir la energía eléctrica en ultrasónica con una eficiencia del 98% (Mason *et al.*, 2005).

4.1 Equipo a nivel laboratorio

Los dos equipos más comunes a nivel laboratorio usados para tratar medios líquidos para desinfección, son el baño de limpieza de ultrasonido y las puntas ultrasónicas. El primer tipo de equipo es económico y comúnmente usado para la limpieza de recipientes que se introducen en el baño (Fig. 3). Los sistemas más poderosos de ultrasonido son los que utilizan puntas sónicas, los cuales introducen la vibración directamente en la muestra. Ambos equipos fueron diseñados originalmente para aplicaciones específicas, de manera que los baños ultrasónicos eran utilizados para la limpieza de material de vidrio, introduciéndolo en el baño y las puntas

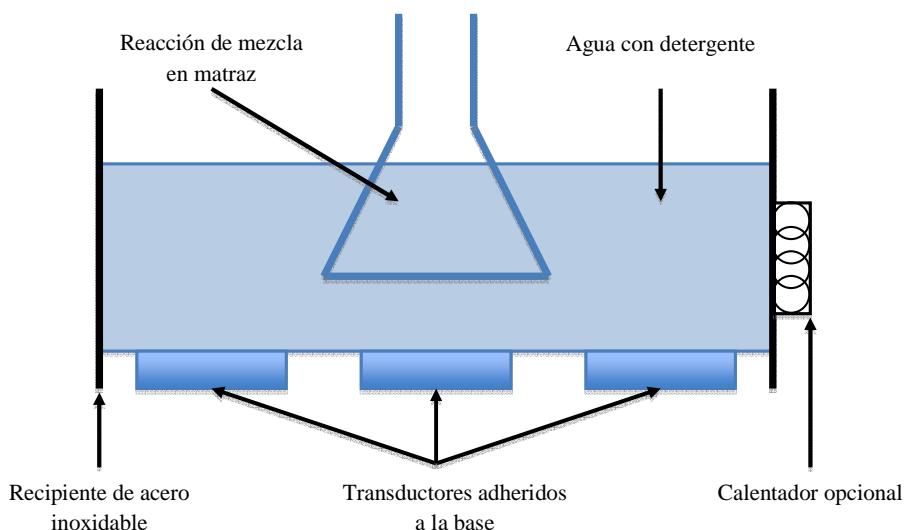


Fig. 3. Baño ultrasónico (Mason *et al.*, 2005)

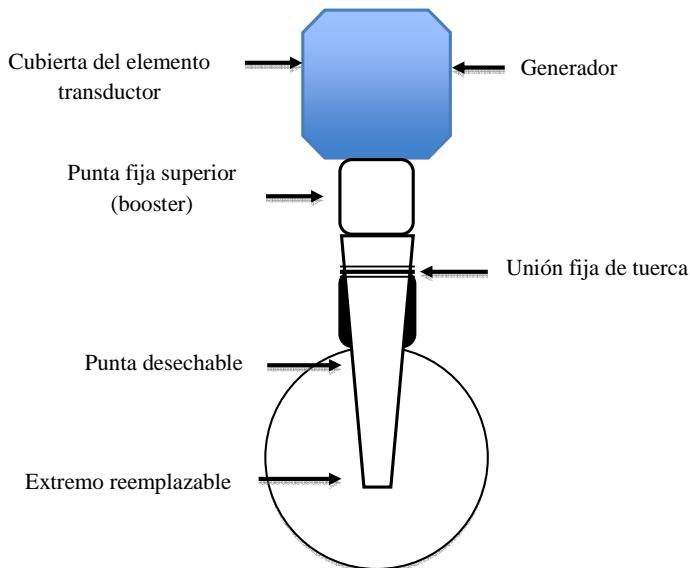


Fig. 4. Sistema de punta ultrasónica (Mason *et al.*, 2005)

sónicas para el rompimiento celular, (Mason, 1998; Zenker *et al.*, 2003).

4.1.1 Baños ultrasónicos para limpieza

El transductor que produce el ultrasonido opera a una potencia de 1-5 W/cm². El ultrasonido es transmitido a través del líquido, el cual es usualmente agua. Dentro del baño se encuentra el recipiente que contiene la solución a tratar. La desventaja de este sistema es que al producir la cavitación fuera del contenedor de la solución, la intensidad ultrasónica se atenúa (Mason, 1998).

4.1.2 Puntas ultrasónicas de inmersión directa

Las puntas están elaboradas con aleaciones de titanio, aluminio, aluminio-bronce y acero inoxidable (Fig. 4). Las aleaciones de titanio son preferidas ya que producen bajas pérdidas de sonido, buena resistencia a la erosión y menor fatiga (Seymour *et al.*, 2002). Las formas de las puntas pueden ser:

- a) Lineales: su forma aumenta la potencia cuatro veces.
- b) Exponentiales: aumenta las intensidades mucho más que las puntas lineales. Esta forma es más difícil de manufacturar, por estrecha longitud y la pequeña área de la punta. Es apropiada en irradiación de muestras pequeñas.
- c) De flujo: apropiadas para mezclas líquidas y emulsiones.
- d) Escalonada: utilizada para procesos de alta intensidad y de gran volumen.

5. Aplicaciones del UAI en alimentos

En la Tabla 1 se resumen las principales alternativas que el UAI ha demostrado tener para el tratamiento, procesamiento y conservación de alimentos, así como los posibles efectos que presenta al combinarse con el calor (termosonicación) y la presión (manotermosonicación).

Algunas aplicaciones del UAI (Dolatowski *et al.*, 2007) son:

Tabla I. Algunas aplicaciones del ultrasonido de poder o de baja frecuencia en la industria de alimentos ^a

Aplicación	Descripción
Efectos antimicrobianos	Destrucción microbiana, limpieza de superficies
Transferencia de calor	Incremento de la velocidad de congelación, descongelación y cocido
Transferencia de masa	Incremento de la velocidad de transferencia de masa durante el secado (sólido, líquido y secado osmótico), curado, separación de membrana, desecación y filtración por membrana
Procesado de cárnicos	Tenderización de la carne
Emulsificación, encapsulación y homogenización	Homogenización y emulsificación de la leche y mayonesa
Fermentación y maduración	Incremento en la velocidad de fermentación y añejamiento (vino)
Cristalización	Control de la nucleación y crecimiento de cristales
Corte	Cortado de productos frescos y congelados, incluyendo alimentos compuestos o multicapa
Degaseo y despumante	Despumado de bebidas carbonatadas, cerveza u otros líquidos durante enlatado; despumado de fermentos microbiológicos; remoción de gases disueltos en líquidos
Rompimiento celular y extracción	Mejoramiento de la extracción de compuestos (enzimas, proteínas y aceites esenciales)
Actividad enzimática y desnaturización de proteínas	Inactivación y mejoramiento de la actividad enzimática; desnaturización de proteínas
Polimerización y depolimerización	Aplicación en polímeros alimenticios

^a Adaptado de Torley y Bhandari (2007)

- Procesos de oxidación: en el desarrollo de aromas y sabores (producción de vinos).
- Estimulación celular: acelera la producción de yogurt y en la industria agrícola se han obtenido resultados exitosos en la germinación de semillas.
- Esterilización: muy común tanto en superficies de materiales como en alimentos.
- Cristalización: controla el tamaño de los cristales durante la congelación, especialmente en los vegetales, ya que al aumentar el tamaño del cristal, aumenta el daño estructural, siendo un factor muy importante en control.
- Desgasificar: retira aire o gas de líquidos viscosos como el chocolate.
- Filtración: facilita la separación de partículas suspendidas en líquidos.
- Secado acústico: incrementa la transferencia de calor entre el sólido y el líquido, evita la oxidación y degradación del material.

5.1 Inactivación de enzimas

El UAI incrementa la efectividad de la inactivación enzimática en comparación con el tratamiento térmico, aplicado a derivados vegetales (lipoxigenasa del frijol de soya, peroxidasa del rábano y del berro, pectinmetilesterasa de la naranja y tomate y poligalacturonasa), tejidos animales (malato dehidrogenasa del corazón porcino, *L*-lacto dehidrogenasa de la carne del conejo, alcalinfosfatasa de la mucosa intestinal de los bovinos y fosfolipasa A2, tripsina y lipasa del páncreas porcino), de microorganismos (proteasa y lipasa de *Pseudomonas fluorescens*, alcohol dehidrogenasa de levadura de panadería y β-galactosidasa de *Escherichia coli*) y de leche (lactoperoxidasa de bovinos) (Vercet *et al.*, 2001; 2002). La inactivación enzimática se incrementa al aumentar el poder ultrasónico, la frecuencia, intensidad de la cavitación, temperatura y presión de proceso, pero disminuye conforme el volumen a tratar aumenta (Ozbek y Ulgen, 2000; Raviyan *et al.*, 2005).

5.2 Mezclado y homogenización

Existe un gran número de procesos que utilizan el UAI para mezclar materiales (Canselier *et al.*, 2002). Uno de los más empleados es el “método del silbido”, basado en la reducción del tamaño de los orificios o toberas, cambiando la velocidad para alcanzar el tamaño de partícula necesario o grado de dispersión. Ejemplos de ello son las emulsiones base utilizadas en sopas, salsas o aderezos, que consisten en una mezcla de agua, leche en polvo, aceite comestible y grasas, junto con harina o almidón como agente espesante. Estos materiales se mezclan y se hacen pasar por el homogenizador, produciendo una emulsión con finas partículas de una textura suave. La salsa cátsup es procesada de forma similar para obtener un producto terso con elevada viscosidad, mejorando el sabor como resultado de la completa dispersión de la pulpa del tomate (Mason, 1998).

Otro estudio se realizó con emulsiones aceite/agua, producidas por agitación mecánica (10 000 rpm, P = 170 W) y con

ultrasonido de poder (20 kHz, 130 W), usando el sistema modelo de agua / keroseno / monoesterato polietoxilado de sorbitán (20 EO). Con el ultrasonido, el tamaño de gota fue mucho menor que el obtenido por agitación mecánica, haciendo que la emulsión fuera mucho más estable. Este método se utilizó en procesos de encapsulación de aroma de queso líquido (20%), en matrices de carbohidratos en secado por aspersión. Para la encapsulación, el sistema tratando con ultrasonido obtuvo una emulsión del aroma disperso en un tamaño de gota más fino, reteniéndolo mejor, en comparación con la agitación mecánica (Mongenot *et al.*, 2000).

Por otro lado, el proceso de homogenización con UAI ha demostrado ser eficiente a escala pequeña, pero no así cuando se aumenta el volumen del líquido a procesar, debido a que la intensidad del ultrasonido decrece rápidamente a medida que se aleja de la punta sónica (Torley y Bhandari, 2007).

Behrend *et al.* (2000), han comparado

Tabla II. Algunos ejemplos de tratamientos con ultrasonido para tenderización de carne^a

Músculo	Frecuencia (kHz)	Potencia de entrada	Tiempo de tratamiento (min)	Efecto de tenderización
Caballo - Semimembranoso	22	1500 W	Cinco sesiones total 50 min.	La carne tratada con ultrasonido tuvo menos fuerza de unión, que el tratamiento convencional (inyección y colgado) ($31.5 \text{ Kg/cm}^2 \text{ N}$)
Pollo - Mayormente pectoral	40	2400 W	15	A 24 h de matanza, el tratamiento con ultrasonido reflejó menos fuerza (4.4 N) que el no tratado (5 N)
Carne - Semitendinoso	25,9	1000 W	Arriba de 16	La carne con ultrasonido tuvo menor fuerza de unión que la no tratada entre 2 y 4 minutos, pero igual o superior después de 8 a 16 minutos
Carne - Elongado, semitendinoso, del biceps	30,47	0.29-0.62 W/cm ²	Arriba de 30	El ultrasonido no afectó la tenderización
Oveja - Elongado	20	63 W/cm ²	En promedio 2.5 por filete	El ultrasonido no afectó la tenderización

^a Adaptado de Torley y Bhandari (2007)

procesos ultrasónicos con otros tipos de emulsificación mecánicos. La viscosidad de la fase continua fue modificada con estabilizadores solubles en agua (sistemas aceite/agua) y con diferentes aceites (sistemas agua/aceite). A una densidad energética constante, el tamaño de las gotas disminuía al adicionar estabilizadores, no influyendo en la viscosidad del aceite en la emulsión agua/aceite. Estudios cualitativos de la cavitación, han demostrado poca penetración de tal fenómeno en el medio líquido, por lo cual se requiere desarrollar equipos para optimizar procesos de emulsificación con ultrasonido (Mason *et al.*, 2005).

5.3 Ablanamiento de carne

La suavidad es la característica más importante que el consumidor busca en la carne cocida (Boleman *et al.*, 1997). La tenderización de la carne es influída por múltiples factores, incluyendo las características del animal (genéticas, edad y función muscular), manejo antes del sacrificio (estrés y glucógeno en el músculo) y posterior al mismo (velocidad de enfriamiento, estimulación eléctrica y manipulación general) (Tarrant, 1998). El ultrasonido ofrece características potenciales (Tabla II), para lograr la tenderización sin alterar la apariencia que se produce con algunos otros tratamientos.

El ultrasonido puede además dañar las paredes y membranas celulares y desnaturalizar las proteínas por medio de la pulsación de las burbujas, la cavitación y la formación de radicales libres, incluyendo la fragmentación del colágeno (Miles *et al.*, 1999).

5.4 Congelado y descongelado

El UAI puede ayudar en el proceso de congelado, disminuyendo el tiempo de

proceso y mejorando su calidad (Zheng y Sun, 2006). Se ha demostrado que el UAI incrementa el coeficiente convectivo de transferencia de calor (Lima y Sastry, 1990), entre el alimento y el medio refrigerante; además influye en la cristalización, incrementando la velocidad de nucleación y el crecimiento de cristales (Mason *et al.*, 2005), haciendo posible a través de las burbujas de la cavitación o por el colapso de éstas, el rompimiento de núcleos para formar cristales más pequeños (Zheng y Sun, 2006). Una de las desventajas de usar UAI en congelación es la producción de calor (Torley y Bhandari, 2007).

En contra parte, el proceso de descongelado, realizado tradicionalmente con agua o aire a gran escala puede ser apoyado con el empleo de ultrasonido. Se ha propuesto que la absorción de la energía ultrasónica depende de la relajación termoelástica de los cristales de hielo en el alimento y se ve afectada por la orientación y tamaño de los mismos, presencia de impurezas en los cristales de hielo y la temperatura (Zheng y Sun, 2006).

El futuro del empleo del UAI combinado con procesos de congelación y descongelación está ligado al desarrollo de equipo industrial adecuado. De hecho, la aplicación comercial de nuevas tecnologías depende de la facilidad de operación y la relación costo/beneficio para solucionar el problema. Específicamente, la congelación en conjunto con ultrasonido puede tener promisorias aplicaciones en el tratamiento de alimentos de alto costo y para productos farmacéuticos (Zheng y Sun, 2006).

5.5 Extracción

La aplicación del ultrasonido de poder en la extracción de compuestos de origen vegetal ha demostrado tener efectos benéficos, derivados de la acción mecánica de

incrementar la penetración del solvente en el producto, aumentando la transferencia de masa en la interfase. Se supone que esos beneficios están relacionados con el aumento de la difusión celular por la penetración provocada por la cavitación (Mason, 1999).

Las hierbas son una fuente de materia prima para la industria farmacéutica, cosmética y de alimentos y, más recientemente en agricultura para el control de plagas (Vinotoru, 2001). El ultrasonido puede ser empleado para mejorar la extracción cuando se usa un solvente de bajo punto de ebullición y la temperatura de la mezcla en extracción es mantenida por debajo de este punto (Mason *et al.*, 2005). La extracción supercrítica con CO₂ es una técnica no convencional que ofrece buenos resultados. Es aplicable para extracción de fragancias, obteniendo aceites esenciales de buena calidad. Al requerir que el solvente presente mayor transferencia de masa al soluto para lograr la extracción, el ultrasonido logra mejorar esta característica; además, representa la única forma práctica de lograr agitación en el medio, ya que no se pueden emplear agitadores mecánicos. Riera *et al.* (2004), estudiaron el efecto del

ultrasonido (20 kHz y 50 W) en la extracción de aceite de almendras usando CO₂ como fluido supercrítico para extracción. Con 280 bar y 55 °C, al final del tiempo de extracción (8 a 30 minutos), la cantidad de aceite fue incrementada significativamente (20%) en comparación con el método sin ultrasonido; por otro lado la transferencia de masa fue más rápida que para el caso sin el empleo de UAI.

5.6 Efecto microbiológico

Por otro lado, el UAI aplicado a la inactivación microbiológica, tiene a la cavitación como responsable de este hecho. Las burbujas de gas formadas en el medio, hacen que se llegue a un momento donde la energía ultrasónica que se provee no es suficiente para retener el vapor en la burbuja y se provoca la condensación. Las moléculas condensadas chocan violentamente creando ondas, dichas ondas crean regiones de alta temperatura y presión. Dichos choques actúan sobre ciertos componentes estructurales y funcionales celulares hasta el punto de provocar la lisis celular (Piyasena *et al.*, 2002; López-Malo *et al.*, 2005).

Tabla III. Valores de tiempo de reducción decimal (D) en minutos, para calentamiento (62 °C) y tratamiento ultrasónico presurizado (40 °C, 200 kPa, 117 µm) de diferentes bacterias ^a

Microorganismo	Resistencia térmica	Resistencia ultrasónica
<i>B. subtilis</i>	Insensitive	12.0
<i>L. monocytogenes</i>	0.62	1.50
<i>E. faecium</i>	15.3	4.0
<i>Y. enterocolitica</i>	0.39	1.20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.18	0.92
<i>E. coli</i>	0.012	0.87
<i>S. enteritidis</i>	0.068	0.73
<i>S. typhimurium</i>	0.12	0.80
<i>S. senftenberg</i>	1.1	0.84
<i>A. hydrophila</i>	0.024	0.86

^a Adaptado de Condón *et al.* (2005)

Ciertos microorganismos pueden ser más susceptibles al tratamiento con ultrasonido que otros. Se ha visto que las células largas o más grandes son más sensibles al UAI. Con el incremento en el área de superficie, las células de mayor tamaño son bombardeadas por la presión producida por la cavitación, haciéndolas más vulnerables al tratamiento. Las especies de microorganismos que producen esporas son más resistentes al calor y observando el mismo efecto con el UAI. En general, los esporuladores presentan mayor resistencia que los vegetativos y los cocos son más resistentes que los bacilos (Guerrero *et al.*, 2000). Las células Gram-positivas son más resistentes al ultrasonido que las Gram-negativas, ya que la pared celular Gram-positiva es más gruesa y contiene una capa adherente cercana de peptidoglicanos (Mason *et al.*, 2005).

Sin embargo, Scherba *et al.* (1991), encontraron que la sensibilidad microbiana al ultrasonido, no depende de su morfología celular, sino del efecto producido dentro de la membrana citoplasmática.

Como parte del mecanismo de acción, tanto el calor como las ondas de choque por cavitación o ambos, pueden ser los responsables del efecto letal del UAI. Por otro lado, la temperatura extremadamente alta y la presión de las burbujas colapsantes, provocan la disociación del vapor de agua en radicales OH y radicales de H, ambos radicales altamente reactivos que influyen en la inactivación microbiana por daño oxidativo, similar al causado por los hidroperóxidos (Suslick, 1990).

La influencia de la composición del medio en la resistencia microbiana al ultrasonido ha sido demostrada en diferentes especies de levaduras y bacterias, siendo mayor en el caso de los alimentos que en caldos nutritivos. Por ejemplo, la resistencia al ultrasonido en *E. coli*, fue mayor en leche

con alto contenido en grasa (Lee *et al.*, 1989).

El efecto del pH no está del todo claro; sin embargo, se ha encontrado que no influye en la resistencia al UAI, aunque se presenta una disminución en los valores *D* (tiempo de reducción decimal) en medios con pH ácido (Condón *et al.*, 2005).

6. *El ultrasonido como alternativa al tratamiento térmico*

La Tabla III muestra los valores *D* de la resistencia a tratamientos ultrasónicos en distintas especies bacterianas (20 kHz, 117 µm, 200 kPa, 40 °C), en comparación con el tratamiento térmico. El valor *D* de la mayoría de las células vegetativas resistentes al ultrasonido, como *E. faecium*, fue 5 veces mayor que el encontrado para las más sensibles (*Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*), mientras que la resistencia al calor fue 1000 veces mayor (Condón *et al.*, 2005).

La inactivación bacteriana por ultrasonido es un fenómeno “todo o nada”, es decir, puede o no existir efecto en la célula sometida a las ondas ultrasónicas, haciendo complicado poder combinar el tratamiento con otros de forma que se obtengan resultados letales. Los reportes de tratamientos con ultrasonido previo al empleo de métodos combinados no son del todo satisfactorios; sin embargo, el utilizar distintos compuestos o tecnologías previas al tratamiento ultrasónico ha demostrado afectar la resistencia mecánica de las células bacterianas, lo que facilita la acción de las ondas sobre la pared celular. La combinación simultánea de calor y ondas ultrasónicas bajo presión, puede lograr la inactivación bacteriana. Generalmente, se espera un efecto aditivo y a una temperatura óptima, el tiempo de tratamiento se puede reducir a la mitad. Algunas veces un efecto sinérgico se da

utilizando MTS, superando en ventajas al tratamiento térmico (Condón *et al.*, 2005).

Como se ha podido observar, el UAI es útil para la conservación de alimentos. Sin embargo, este tipo de tratamiento parece ser aplicable sólo a presión ambiental para inactivar células vegetativas y esporas bacterianas. El empleo de presión estática puede incrementar el efecto letal ultrasónico más de cuatro veces. Esto puede hacer que la MTS sea un método conveniente para la inactivación bacteriana a temperatura ambiente. Sin embargo, el efecto letal en esporas está aun limitado (Condón *et al.*, 2005). Esporas de *B. subtilis* mostraron a 500 kPa y 117 µm de amplitud de onda, valores D de aproximadamente 6 minutos (Raso *et al.*, 1998b) y por lo tanto sólo en ocasiones especiales la manosonicación puede usarse como una alternativa real para sustituir al tratamiento térmico.

6.1. Efectos combinados

El uso de ultrasonido combinado con otros factores, mejora el resultado del tratamiento. Tal es el caso de la denominada MTS, la cual emplea ultrasonido junto con presión y temperatura. Este tipo de tratamientos fue empleado por López *et al.* (1994), para estudiar el efecto en enzimas relevantes en la industria de alimentos como la lipoxigenasa, polifenoloxidasa y peroxidasa en sistemas modelo, reportando que la MTS era más eficiente para la inactivación enzimática en comparación con el tratamiento térmico, especialmente aquellas que son termolábiles como la lipoxigenasa y polifenoloxidasa. Por otro lado, las proteasas y lipasas de *Pseudomonas* psicrótrofas (Vercet *et al.*, 1997), consideradas como índice de calidad para el tratamiento de ultrapasteurización de la leche, fueron inactivadas diez veces más rápido utilizando MTS. La pectinmetilesterasa de jugo de naranja, fue inactivada con un valor D = 500 minutos (72

°C), en comparación con la combinación de UAI y calor (72 °C, 20 kHz, 117 µm y 350 kPa), obteniendo un valor D de 1.2 minutos, siendo ésta última más eficiente al reducir el tiempo de tratamiento (Vercet *et al.*, 1999). El uso de UAI a presión ambiental también ha sido exitoso en la inactivación enzimática en alimentos, como con la peroxidasa, que fue inactivada por una combinación de calor y UAI a pH neutro (Gennaro *et al.*, 1999) y bajo pH (Yoon-Ku *et al.*, 2000); la lipoxigenasa, ha mostrado inactivación a bajas frecuencias de ultrasonido en sistemas modelo (Thakur y Nelson, 1997).

El efecto letal sinergístico de la MTS ha sido reportado para esporas bacterianas (Raso *et al.*, 1998a), células de *L. monocytogenes* sometidas a choque térmico (Págán *et al.*, 1999a), células vegetativas con resistencia al calentamiento y distintas especies de *Salmonella* tratadas a actividades de agua intermedias (Pagan *et al.*, 1999b). Se ha observado que el ultrasonido rompe la cubierta externa de algunas esporas bacterianas y libera ácido dipicolínico y polipéptidos de bajo peso molecular de la corteza de dichas esporas (Palacios *et al.*, 1991). Raso *et al.* (1998a), encontraron que la MTS sensibiliza las esporas de *B. subtilis* en presencia de lisozima. Algunas esporas tienen la característica de tener perforaciones en la corteza y ser sensibles a la lisozima, pero en la mayoría de los casos, la lisozima sólo es capaz de hidrolizar los peptidoglicanos de la corteza de la espora si ésta se debilita primero.

Lo anterior explica el efecto sinérgico de la MTS para la inactivación de las esporas bacterianas. Las ondas ultrasónicas a presión, actuarán sensibilizando las esporas al calor. Cuando se trata a bacterias sensibles al calor por medio de la MTS, el efecto letal inicia a bajas temperaturas; por el contrario, cuando se trata a células resistentes a altas temperaturas, el efecto térmico letal aparece

a altas temperaturas, cambiando la rigidez de la membrana, resultando una sinergia de tratamientos (Condón *et al.*, 2005).

Conclusiones

De esta forma el ultrasonido ha atraído el interés en la aplicación a la ciencia y tecnología de alimentos, por ejemplo en la modificación de las propiedades, aportando beneficios en el procesamiento y conservación. Al ser una tecnología emergente, puede aplicarse para desarrollar procesos modernos, mejorando la calidad y seguridad de los alimentos. La intensidad del tratamiento con UAI se evalúa actualmente a nivel laboratorio, verificando los cambios que se producen en las propiedades fisicoquímicas de los alimentos. En el presente estudio se plantearon las líneas tecnológicas en las que se aplica el UAI, con resultados aceptables. Dichos resultados deberán ser sopesados contra el beneficio que aporta este tratamiento como una de las tecnologías emergentes de mayor auge a nivel mundial en el área de alimentos, significando ahorros en tiempo, económicos y con beneficios a la salud y gusto del consumidor, degradando en menor cantidad los componentes endémicos del alimento y garantizando la inocuidad del mismo.

Referencias

- Behrend, O., Ax, K. y Schubert, H. 2000. Influence of continuous phase viscosity on emulsification by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*. 7(2): 77-85.
- Boleman, S. J., Miller, M. F., West, D., Johnson, D. y Savell, J. W. 1997. Consumer evaluation of beef of known categories of tenderness. *Journal of Animal Science*. 75(6): 1521-1524.
- Canselier, J. R., Delmas, H., Wilhelm, A. M. y Abismail, B. 2002. Ultrasound emulsification: an overview. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 23(3): 333-349.
- Condón, S., Raso, J. y Pagán, R. 2005. Microbial inactivation by ultrasound. En: G. Barbosa-Cánovas, M. S. Tapiá y M. P. Cano (Eds). *Novel food processing technologies*. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp. 423-442.
- Dolatowski, J. D., Stadnik, J. y Stasiak, D. 2007. Applications of ultrasound in food technology. *Technología Alimentaria*. 6(3): 89-99.
- Gennaro, L. D., Cavella, S., Romano, R. y Masi, P. 1999. The use of ultrasound in food technology I: inactivation of peroxidase by thermosonication. *Journal of Food Engineering*. 39(4): 401-405.
- Guerrero, S., López-Malo, A. y Alzamora, S. M. 2000. Effect of ultrasound on the survival of *Saccharomyces cerevisiae*: influence of temperature, pH and amplitude. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2(1): 31-39.
- Hoover, D. G. 2000. Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies. *Ultrasound. Journal of Food Science Supplement*. 65(8): 93-95.
- Lee, B. H., Kermasha, S. y Baker, B. E. 1989. Thermal ultrasonic and ultraviolet inactivation of *Salmonella* in thin films of aqueous media and chocolate. *Food Microbiology*. 6(2): 143-152.
- Lima, M. y Sastry, S. K. 1990. Influence of fluid rheological properties and particle location on ultrasound-assisted heat transfer between liquid and particles. *Journal of Food Science*. 55(5): 1112-1115.
- López, P., Sala, F. J., Fuente, J. L., Condón, S., Raso, J. y Burgos, J. 1994. Inactivation of peroxidase, lipoxygenase and polyphenol oxidase by manothermosonication. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 42(2): 252-256.
- López-Malo, A., Palou, E., Jiménez, M., Alzamora, S. M. y Guerrero, S. 2005. Multifactorial fungal inactivation combining thermosonication and antimicrobials. *Journal of Food Engineering*. 67(1): 87-93.
- Mason, T. J. 1998. Power ultrasound in food processing the way forward. En M. J. W. Povey, y T. J. Mason, (Eds). *Ultrasound in food processing*. Blackie Academic and Professional. EE.UU. p. 264.

- Mason, T. J. 1999. *Sonochemistry*. Oxford University Primer Series No. 70. Oxford Science Publications. En: D. Sun (Ed). *Emerging technologies for food processing*. Elsevier. Londres. Gran Bretaña. p. 768.
- Mason, T. J., Riera, E., Vercet, A. y López-Buesa, P. 2005. Application of ultrasound. En: D. Sun (Ed). *Emerging technologies for food processing*. Elsevier. Londres. Gran Bretaña. pp. 323-351.
- McClements, D. J. 1995. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends in Food Science and Technology*. 6(9): 293-299.
- Miles, C. A., Morley, M. J. y Rendell, M. 1999. High power ultrasonic thawing of frozen foods. *Journal of Food Engineering*. 39(2): 151-159.
- Mongenot, N., Charrier S. y Chalier, P. 2000. Effect of ultrasound emulsification on cheese aroma encapsulation by carbohydrates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48(3): 861-867.
- Mulet, A., Cárcel, J. A., Benedito, J. y Sanjuan, N. 2002. Applications of low-intensity ultrasonics in the dairy industry. En: J. Welti-Chanes, G. Barbosa-Cánovas y J. M. Aguilera (Eds). *Engineering and food for the 21st Century*. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp. 763-783.
- Ozbek, B. y Ulgen, K. O. 2000. The stability of enzymes after sonication. *Process Biochemistry*. 35(9): 1037-1043.
- Pagán, R., Mañas, P., Álvarez, I. y Condón, S. 1999a. Resistance of *Listeria monocytogenes* to ultrasonic waves under pressure at sublethal (manosonation) and lethal (manothermosonation) temperatures. *Food Microbiology*. 16(2): 139-148.
- Pagán, R., Mañas, P., Raso, J. y Condón, S. 1999b. Bacterial resistance to ultrasonic waves under pressure at nonlethal (manosonation) and lethal (manothermosonation) temperatures. *Applied Environmental Microbiology*. 65(1): 297-300.
- Palacios, P., Burgos, J., Hoz, L., Sanz, B. y Ordóñez, J. A. 1991. Study of substances released to ultrasonic treatment from *Bacillus stearothermophilus* spores. *Journal of Applied Bacteriology*. 71(5): 445-451.
- Piyasena, P., Mohareb, E. y McKellar, R. C. 2002. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*. 87(3): 207-216.
- Raso, J., Pagán, R., Condón, S. y Sala, F. J. 1998a. Influence of temperature and pressure on the lethality of ultrasound. *Applied Environmental Microbiology*. 64(2): 465-471.
- Raso, J., Palop, A., Pagán, R. y Condón, S. 1998b. Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by combining ultrasonic waves under pressure and mild heat treatment. *Journal of Applied Microbiology*. 85(5): 849-854.
- Raviyan, P., Zhang, Z. y Feng, H. 2005. Ultrasonication for tomato pectinmethylesterase inactivation: effect of cavitation intensity and temperature on inactivation. *Journal of Food Engineering*. 70(2): 189-196.
- Riera, E., Golás, Y., Blanco, A., Gallego, J. A., Blasco, M. y Mulet, A. 2004. Mass transfer enhancement in supercritical fluids extraction by means of power ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*. 11(3): 241-244.
- Scherba, G., Weigel, R. M. y O'Brien, W. D. Jr. 1991. Quantitative assessment of the germicidal efficacy of ultrasonic energy. *Applied and Environmental Microbiology*. 57(7): 2079-2084.
- Seymour, I. J., Burfoot, D., Smith, R. L., Cox, L. A. y Lockwood, A. 2002. Ultrasound decontamination of minimally processed fruits and vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*. 37(5): 547-557.
- Suslick, K. S. 1990. Sonochemistry. *Science*. 247(4949): 1439-1445.
- Tarrant, P. V. 1998. Some recent advances and future priorities in research for the meat industry. *Meat Science*. 49(1): S1-S16.
- Thakur, B. R. y Nelson, P. E. 1997. Inactivation of lipoxygenase in whole soy flour suspension by ultrasonic cavitation. *Die Nahrung*. 41: 299-301. En: D. Sun (Ed). *Emerging technologies for food processing*. Elsevier. Londres. Gran Bretaña. p. 768.
- Torley, P. J. y Bhandari, B. R. 2007. Ultrasound in food processing and preservation. En: M. S. Rahman (Ed). *Handbook of food preservation*. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp. 713-739.
- Vercet, A., López-Buesa, P. y Burgos, J. 1997. Inactivation of heat-resistant lipase and protease from *Pseudomonas fluorescens* by manothermosonation. *Journal of Dairy Science*. 80(1): 29-36.

- Vercet, A., López-Buesa, P. y Burgos, J. 1999. Inactivation of heat-resistant pectinmethylesterase from orange by manothermosonication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47(2): 432-437.
- Vercet, A., Burgos J., Crelier, S. y López-Buesa, P. 2001. Inactivation of proteases and lipases y ultrasound. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2(2): 139-150.
- Vercet, A., Burgos, J. y López-Buesa, P. 2002. Manothermosonication of heat-resistant lipase and protease from *Pseudomonas fluorescens*: effect of pH and sonication parameters. *Journal of Dairy Research*. 69(2): 243-254.
- Vinatoru, M. 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*. 8(3): 303-313.
- Yoon-Ku, J., Park, S. O. y Bong-Soo, N. 2000. Inactivation of peroxidase by hurdle technology. *Food Science and Biotechnology*. 9(2): 124-129.
- Young, F. R. 1989. *Cavitation*. Mc Graw Hill. Gran Bretaña. p. 418.
- Zenker, M., Heinz, V. y Knorr, D. 2003. Application of ultrasound-assisted thermal processing for preservation and quality retention of liquid foods. *Journal of Food Protection*. 66(9): 1642-1649.
- Zheng, L. y Sun, D. 2006. Innovative applications of power ultrasound during food freezing processes: a review. *Trends in Food Science & Technology*. 17(1): 16-23.