



Pulsos eléctricos: fundamentos y aplicaciones en alimentos

T. G. Cerón-Carrillo*, E. Palou y A. López-Malo

*Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas, Puebla.
Sta. Catarina Mártir, Cholula, Puebla. 72810. México*

Resumen

Durante mucho tiempo se ha buscado la seguridad microbiana de los alimentos junto con una conservación de sus propiedades. Sin embargo, la mayoría de las veces, la seguridad es acompañada con la pérdida de sus características nutricionales, de textura y sabor; es por esto que se recurre a tecnologías no térmicas como los pulsos eléctricos. El objetivo de este trabajo es dar a conocer los fundamentos y aplicaciones de los pulsos eléctricos en la industria alimentaria. Según diversos estudios, esta tecnología permite la inactivación de muchas especies de microorganismos por medio de la formación de poros en la membrana celular. De igual forma, se emplea para la extracción de diversos compuestos como antioxidantes, antimicrobianos y colorantes, permitiendo mayores rendimientos de éstos. Además permite una mejor transferencia de masa para la deshidratación de especies vegetales debido a la permeabilización de las células. Las características antes mencionadas permitirán que en el futuro pueda ser implementada a gran escala.

Palabras clave: pulsos eléctricos, campos eléctricos, intensidad de campo, electroporación.

Abstract

Industries have been looking for microbial safety of foods, preserving its original nutritional properties. However, many times microbial safety means lost of nutritional, flavor and textural loses. For these reasons, non-thermal technologies such as electric pulses are important. The aim of this work is to describe the fundamentals and applications of pulse electric field in the food industry. According to several researchers, this technology allows the inactivation of many species of microorganisms due to pore formation or electroporation. Furthermore it could be applied for the extraction of antioxidants, antimicrobials, and colorants enhancing yields. Permeabilization of the cellular membrane enhances mass transfer in the dehydration of vegetables. These characteristics will allow that in the future, pulsed electric fields be implemented in greater scale.

Keywords: pulsed electric fields, high intensity, field intensity, electroporation.

Introducción

Desde hace décadas se han estudiado diversas

tecnologías para la conservación de alimentos, buscando siempre un fin común: la seguridad alimentaria y la conservación de las propiedades organolépticas de los mismos. Una alternativa es el uso de electricidad, con la que se han realizado estudios que permitieron

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

incorporarla como una de estas tecnologías. Algunos estudios señalan que el uso de pulsos eléctricos podía higienizar alimentos líquidos como la leche sin afectar en gran medida su sabor y propiedades.

Actualmente, los pulsos eléctricos son considerados como una tecnología emergente, el tratamiento se realiza colocando alimentos líquidos, semisólidos o sólidos en una solución electrolítica y con baja conductividad térmica entre dos electrodos, mediante los cuales se hace pasar una corriente eléctrica con determinados tiempo (generalmente microsegundos μ s), intensidad y frecuencia. Los pulsos eléctricos pueden ser aplicados por lotes o de forma continua, variando en esta última, la configuración de las cámaras de tratamiento y por lo tanto, la manera en la que los pulsos eléctricos son aplicados.

Esta tecnología ha sido ampliamente utilizada en la inactivación de mohos, levaduras y bacterias en diversos tipos de alimentos donde se ha comprobado que al cambiar alguna de las variables de tratamiento, se ve afectada la efectividad de éste. De la misma manera se han usado para la inactivación de enzimas que afectan la calidad de diferentes alimentos así como auxiliar en el proceso de deshidratación. Otro más de sus usos es siendo un auxiliar en el proceso de extracción ya que la aplicación de electricidad conlleva a la formación de poros en las células vegetales y por lo tanto el líquido intracelular sale más fácilmente de la célula. Sin embargo, esta aplicación no ha sido ampliamente estudiada.

Debido a que los pulsos eléctricos son una tecnología emergente y ya que la información sobre sus fundamentos y sus aplicaciones se encuentra dispersa, en este trabajo se dará a conocer de qué manera funcionan los pulsos eléctricos, cuáles son sus características y los sistemas utilizados actualmente, así como diversas aplicaciones en el área de alimentos.

Revisión bibliográfica

1. ¿Qué son los pulsos eléctricos?

Desde los años 60's se ha estado investigando la tecnología de los pulsos eléctricos para el procesamiento de alimentos. El investigador pionero que trabajó en el desarrollo de esta tecnología fue Doevenspeck, quien generó una patente que describe a los equipos y métodos para el procesamiento de salchichas (Doevenspeck, 1960). Años después Zimmerman *et al.* (1976) promovieron la electroporación reversible, dicho concepto fue un aporte fundamental en la biología celular y de desarrollos terapéuticos que le siguieron. Por esto, la electroporación como método para la manipulación genética ha sido aceptada y desarrollada. Después, en los 1980 Hülshager *et al.* (1983) publicaron una serie de trabajos sobre inactivación microbiana con pulsos eléctricos, lo que conllevó a incrementar el interés en esta área.

Los pulsos eléctricos son un tratamiento no térmico para la conservación de alimentos en el cual se coloca un alimento fluido, semifluido o sólido en una solución electrolítica entre dos electrodos por periodos cortos de tiempo (menos de un segundo) y se aplica un determinado número de pulsos de alto voltaje que van de 20 a 80 kV/cm para la inactivación de microorganismos, de 2.5 a 90 kV/cm para la inactivación de enzimas y de 0.5 a 1 kV/cm (Ho *et al.*, 1997; Van Loey y Hendrickx., 2002) para la extracción de compuestos intracelulares (Fincan y Dejmek, 2002; Lebovka *et al.*, 2002). El beneficio de esta tecnología para los consumidores consiste en brindarles alimentos con características similares a los frescos y con una vida útil extendida (Rastogi *et al.*, 1999).

El tratamiento térmico es altamente efectivo en productos alimenticios para lograr una mejor estabilización, inactivación de enzimas y destrucción de microorganismos

pero que muchas veces resulta en pérdidas de los nutrientes esenciales y cambios en sus propiedades organolépticas; por esto, el tratamiento de pulsos eléctricos ha incrementado su popularidad pues provee una alternativa a los cambios indeseables generados por la pasteurización (Knorr *et al.*, 2001; Barroso-Espach *et al.*, 2003). Los pulsos eléctricos son utilizados en alimentos fluidos que pueden tolerar altas intensidades de campo, que tengan poca conductividad eléctrica y que no formen burbujas (IFT, 2001).

En los trabajos realizados por investigadores se observa que hay dos tipos de sistemas de pulsos eléctricos, los cuales difieren en las posiciones de los electrodos así como en la forma de las cámaras de tratamiento.

2. Sistemas de pulsos eléctricos empleados para el procesamiento de alimentos

El sistema de tratamiento de pulsos eléctricos incluye una fuente de potencia, condensadores, cámara de tratamiento, sistema de medición de voltaje, computadora para el control de condiciones como el voltaje, temperatura y tiempo de proceso (Fig.1).

Se han propuesto dos tipos de sistemas para el tratamiento de alimentos: el sistema por lotes o estático y el sistema de flujo continuo. A continuación se presentarán las principales características de éstos.

2.1 Sistema de tratamiento por lotes

Estos sistemas consisten principalmente de un generador de pulsos de alto voltaje y una cámara de tratamiento. Esta cámara de tratamiento consiste de dos electrodos colocados de forma paralela y separados, por un espacio, el cual contendrá el volumen de

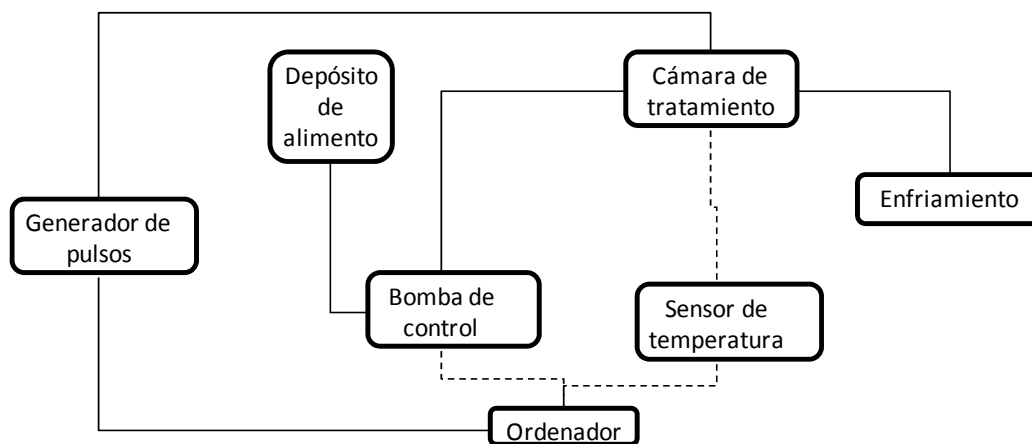


Fig. 1. Diagrama general de sistema de pulsos eléctricos (Adaptado de Barbosa-Canovas *et al.*, 1999).

alimento a tratar. Los electrodos se encuentran separados por materiales aislantes como teflón o plexiglás. La configuración de la cámara y los electrodos debe de ser tal que se evite la ruptura de la matriz alimenticia. Esto también se puede lograr colocando electrodos con bordes redondeados, eliminando impurezas del alimento, así como el aire, y desarrollando un campo eléctrico uniforme en toda la cámara de tratamiento (Zhang *et al.*, 1995). Los parámetros de tratamiento utilizados para este tipo de sistemas se encuentran entre estos rangos: voltaje de 2.5-43 kV, fuerza de campo eléctrico de 0.6-100 kV/cm, distancia de electrodos de 3-77 mm, tiempo de pulso de 1 μ s a 10 μ s, frecuencia de pulso de 0.2-50 Hz, número de pulsos aplicados de 1 a 120 y volumen de la muestra de 0.5 mL a 1.6 L (Ho y Mittal, 2000). Este tipo de sistemas se puede apreciar en la Fig. 2.

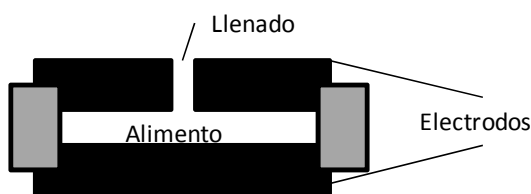


Fig. 2. Cámara de tratamiento de sistema de pulsos eléctricos por lotes o estático (Adaptado de la FDA, 2000).

2.2 Sistema de tratamiento de flujo continuo

Consiste de cinco componentes: una fuente de poder de alto voltaje, un capacitor almacenador de energía, una cámara de tratamiento, una bomba para conducir el alimento a través de la cámara de tratamiento y un enfriador. Además de voltaje, corriente, sistemas para medir la temperatura y una computadora para controlar las operaciones.

La cámara de tratamiento es la parte más importante de estos sistemas. Básicamente es utilizada para mantener al alimento dentro del sistema al momento de aplicar los pulsos, pero también es importante tomar en cuenta, al aplicar una determinada fuerza de pulso, el concepto denominado como rompimiento dieléctrico del alimento. Este rompimiento ocurre cuando se excede la fuerza de campo eléctrico del alimento, ocasionando daños al electrodo e incrementando la presión, lo cual lleva a que la cámara de tratamiento explote y se formen burbujas de gas (Sepulveda y Barbosa-Cánovas, 2005).

Se han propuesto tres configuraciones diferentes para las cámaras de tratamiento de flujo continuo: platos paralelos, coaxial y colinear (Dunn, 2001).

2.2.1 Cámara coaxial

Las cámaras tienen electrodos cilíndricos por dentro y por fuera, con el alimento fluyendo entre éstos, con un flujo eléctrico uniforme. En una cámara de diseño simple, la intensidad del campo eléctrico no es uniforme (Zhang *et al.*, 1995). Este tipo de cámara se puede apreciar en la Fig. 3.

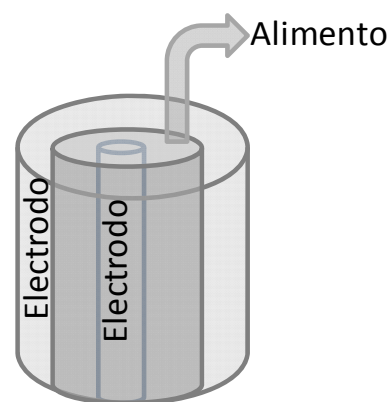


Fig. 3. Configuración coaxial de cámara de tratamiento para sistema continuo (Adaptado de Barbosa-Cánovas y Altunakar, 2006).

Este tipo de cámaras ofrecen un tratamiento uniforme al producto debido a que la geometría radial asegura que la fuerza de campo disminuya hacia el electrodo exterior. Generalmente presentan baja resistencia de carga cuando se utilizan para tratar a la mayoría de los alimentos y el sistema de pulsos debe proporcionar corrientes altas en los voltajes empleados (Barbosa-Cánovas y Altunakar, 2006).

2.2.2 Cámara colinear

Se introdujo por primera vez por Yin *et al.* (1997). Posee dos electrodos huecos separados por un aislante dentro del cual se encuentra un tubo por el que fluye el producto (Fig.4). En ésta se puede manejar una mayor resistencia de carga permitiendo operar con corrientes bajas (Dunn, 2001), además permite un amplio rango de conductividades.

Su diseño es apropiado para procesar alimentos particulados además de poder adaptarse a un sistema de tuberías de tamaño industrial; también puede ocasionar una falta de uniformidad y así una falta de procesamiento de una parte del material (Barbosa-Cánovas y Altunakar, 2006).

2.2.3 Cámara de platos paralelos

Este tipo de cámara de tratamiento contiene diversas zonas de electrodos, los cuales se

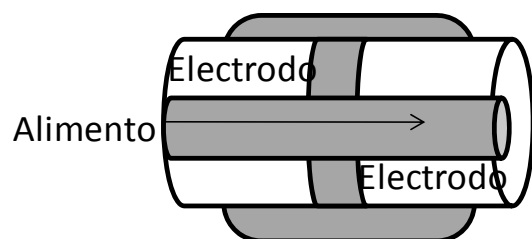


Fig. 4. Configuración co-lineal de cámara de tratamiento para sistema continuo (Adaptado de Barbosa-Cánovas y Altunakar, 2006).

aislan unos de otros por medio de material aislante, y además se separan del alimento líquido por medio de una membrana y una solución electrolítica. El fluido que pasa a través de esta cámara horizontal recibe el tratamiento determinado sólo en algunas zonas. Este tipo de sistema tiene un ahorro de energía limitado ya que los electrodos son alimentados continuamente con alto voltaje (Dunn, 2001).

Sato *et al.*, (2001) describen una cámara vertical la cual tiene dos electrodos concéntricos, con el electrodo, proveedor del alto voltaje, en el interior. El producto es tratado por flujo en el espacio de 5 mm entre los electrodos. Para eliminar el aire de la muestra, la cámara es llenada de abajo hacia arriba y con una sola pasada. Además se cuenta con un espacio de tratamiento de 400 mm a pesar de que los electrodos tenían un diámetro de 500 mm. En esta cámara se experimentó con cerveza sin gas que contenía *Saccharomyces cerevisiae* a una concentración de 10^6 ufc/mL. Después del tratamiento con un flujo de 80 mL/min se obtuvo una reducción de 2 ciclos logarítmicos además de que no se encontró diferencia en la calidad del producto tratado respecto al testigo. La construcción de este sistema es fácil, seguro de operar y el flujo es fácil de monitorear. Sin embargo, la baja efectividad en la disminución de la carga microbiana se debe a la existencia de regiones de campo con baja intensidad.

En otro trabajo propuesto por Qin *et al.*, (1994) se experimentó con una cámara en la cual, la muestra fluía a través de una serie de cámaras de tratamiento en forma de U. El espacio entre electrodos era de 0.51 ó 0.95 cm dando lugar a un volumen de 8 ó 20 mL. Se implementó la circulación de agua a través de los electrodos para enfriarlos. El flujo y la fuerza del campo eléctrico son más difíciles de monitorear debido a los canales en forma de U. Se reportó una disminución de 4 ciclos

logarítmicos en leche descremada con una carga inicial de 8×10^8 ufc/mL de *Escherichia coli*; para este trabajo se emplearon ondas cuadradas, 50 kV/cm de fuerza de campo, con pulsos de 2 μ s, con un espacio entre electrodos de 0.51 cm y 6 pulsos, la temperatura de proceso fue mantenida por debajo de 30 °C.

Además del tipo de sistema a utilizar, para que el proceso tenga efecto sobre lo que se desea obtener, es necesario establecer las condiciones óptimas tanto del sistema como del alimento. Es importante que se conozca qué factor (es) son determinante(s) durante el proceso para el adecuado procesamiento del alimento.

3. Factores de importancia en los pulsos eléctricos

Algunos de los factores que afectan la efectividad del tratamiento se encuentran relacionados con las condiciones que se requieren para lograr ya sea la inactivación microbiana, la inhibición enzimática, la extracción, entre otras. Estos factores se pueden agrupar en 1) factores técnicos, que están relacionados con el equipo y los parámetros de procesamiento, 2) factores biológicos, que se relacionan con los microorganismos, y 3) factores del medio o también relacionados con el tipo y la condición del medio a tratar (Álvarez *et al.*, 2006). Todos estos factores se describen a continuación.

3.1 Factores técnicos

3.1.1 Intensidad del campo eléctrico

La intensidad de campo eléctrico es uno de los factores que afectan de manera importante a la inactivación de microorganismos y cuando se estudia éste en combinación con el tiempo de tratamiento, se observa un rompimiento de la membrana, además de que se debe alcanzar

una intensidad crítica del campo eléctrico para que haya algún efecto (Hülshager *et al.*, 1981). En trabajos de investigación se observa una reducción que va de 0.3 a 3.2 ciclos logarítmicos cuando se aumenta la fuerza de campo 5 kV, para *Staphylococcus aureus* en diferentes medios, por lo tanto se establece que a mayor intensidad de campo existirá una mayor reducción microbiana (Raso *et al.*, 1999; Evrendilek *et al.*, 2004; Sobrino-López y Martín-Belloso, 2006).

Dentro de las características de este factor se presenta un concepto llamado fuerza crítica de campo eléctrico y cuando se sobrepasa este valor, se incrementa la sensibilidad de la membrana de los microorganismos al incrementar la fuerza de campo; es por esto que se ha utilizado este valor junto con la forma y el tamaño de los microorganismos para clasificarlos de acuerdo a la resistencia que poseen a los pulsos eléctricos (Hülshager *et al.*, 1981, 1983; Castro *et al.*, 1993). Sin embargo, este valor es variable cuando cambia el tiempo de tratamiento (Álvarez *et al.*, 2006).

3.1.2 Forma de los pulsos

Otro factor reconocido como importante para la efectividad de este tratamiento es la forma de los pulsos. La forma de la onda se conoce como la suma de las funciones positivas y negativas separadas por su duración. Las formas de ondas eléctricas más utilizadas son la forma cuadrada y la de caída exponencial (Fig. 5 y 6) (Jeyamkondan *et al.*, 1999).

Los pulsos de caída exponencial consisten en un voltaje unidireccional que asciende rápidamente a un valor máximo y desciende lentamente al cero. Los pulsos de forma cuadrada son más letales y más eficientes, energéticamente, que los pulsos de caída exponencial. Los pulsos oscilatorios son los menos eficientes ya que evitan que la célula esté en contacto continuo con el pulso eléctrico de alta intensidad y por lo tanto evita

que tenga daños irreversibles (Jeyamkondan *et al.*, 1999).

Además existen los pulsos monopolares y bipolares (Fig. 5 y 6). Los pulsos bipolares están formados por un pulso positivo y uno negativo, y son más letales que los pulsos monopolares, ya que el tratamiento ocasiona

que las moléculas cargadas se muevan en la membrana celular del microorganismo y un cambio en la polaridad del campo eléctrico ocasiona un cambio en las moléculas cargadas lo que causa estrés y ocasiona ruptura de la membrana (Qin *et al.*, 1994; Ho *et al.*, 1995; Barbosa-Canovas *et al.*, 1999).

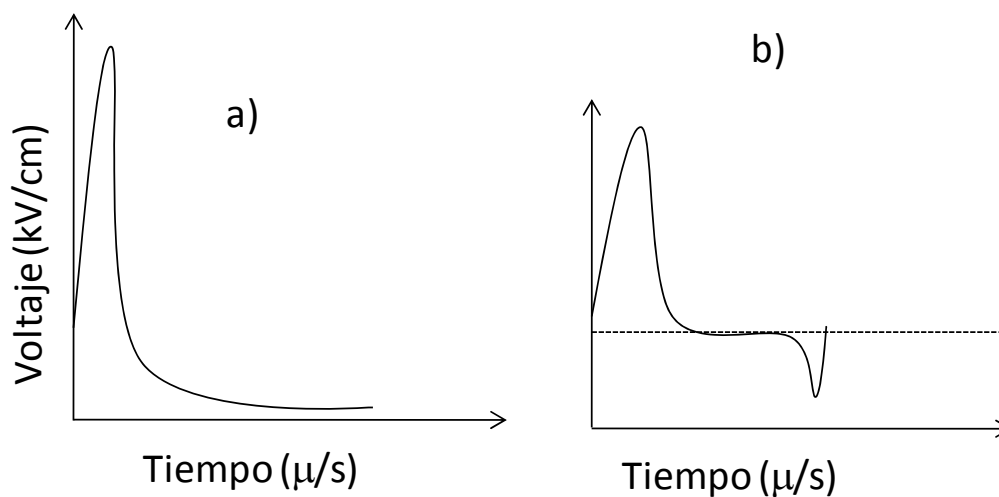


Fig. 5. Formas de pulsos eléctricos usados: a) forma de disminución exponencial monopolar b) forma de caída exponencial bipolar (Adaptado de Barbosa-Cánovas y Altunakar, 2006).

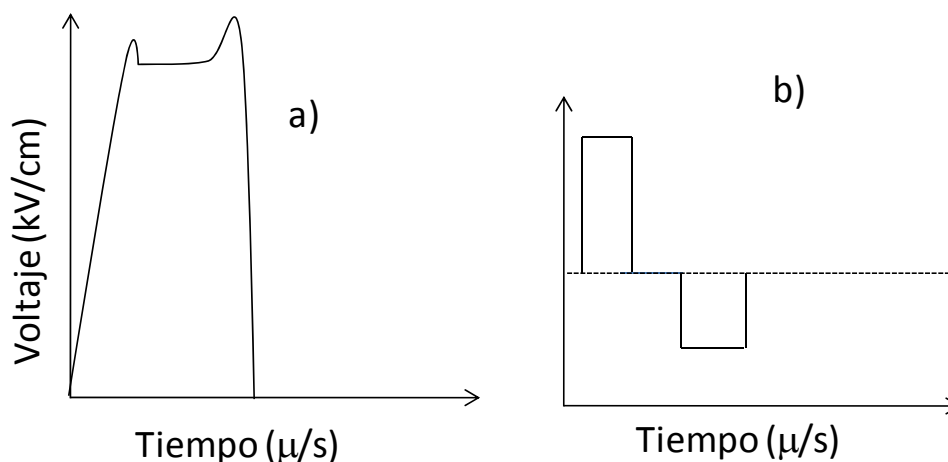


Fig. 6. Forma de pulsos eléctricos usados: a) pulsos cuadrados monopolar y b) pulsos cuadrados bipolar (Adaptado de Barbosa-Cánovas y Altunakar, 2006).

En el estudio realizado por Evrendilkek y Zhang (2005) se reportó que los pulsos bipolares disminuyen en 1.88 unidades logarítmicas a *E. coli*, en leche descremada, en comparación con los pulsos monopolares que sólo producen 1.27 unidades logarítmicas de reducción.

Qin *et al.* (1994) comprobaron que los pulsos de forma cuadrada poseen mayor eficacia al observar una mayor disminución de carga microbiana al someter a *S. cerevisiae* a tratamiento con pulsos de forma cuadrada con una fuerza de 12 kV/cm y con pulsos de forma exponencial con un pico máximo en 60 J/pulso.

3.1.3 Número y longitud de pulsos

La duración del pulso (ancho del pulso) es el tiempo entre las funciones de dos pasos (el borde líder y el borde de arrastre). Algunos autores establecen que hay una relación entre la duración del pulso y la temperatura final del tratamiento ya que a mayor duración del pulso, la temperatura se incrementa y por lo tanto hay una mayor inactivación de los microorganismos como sucedió con *Listeria monocytogenes* en un estudio realizado por Álvarez y Jin (2003).

Así mismo se observa que existe una relación directamente proporcional entre el número de pulsos y la reducción microbiana, ya que se observó mayor disminución de la carga microbiana cuando se sometió a *Staphylococcus aureus*, contenido en jugo de naranja, a un tratamiento de 50 pulsos a 35 kV/cm que con 150 pulsos y con las mismas condiciones de tratamiento (Sobrino-López y Martín-Belloso, 2006).

En otro estudio realizado por Jeyamkondan *et al.* (1999), afirman que la frecuencia de los pulsos aplicada al alimento juega un papel importante en la conservación de éstos, ya que

a mayor cantidad de pulsos se genera un incremento de temperatura en el alimento.

3.1.4 Temperatura y tiempo de tratamiento

Otro de los factores que es importante considerar en esta tecnología, es la temperatura. El principal motivo al aplicar pulsos eléctricos es su característica como un proceso no térmico para minimizar daños al alimento y pérdida de nutrientes. Sin embargo, al trabajar con los pulsos eléctricos junto con temperaturas letales y no letales, se observa que tiene un efecto sinérgico al inactivar microorganismos (Jayaram *et al.*, 1991; Zhang *et al.*, 1994; Pothakamury *et al.*, 1996; Liang *et al.*, 2002). Una mayor temperatura incrementa el movimiento de las moléculas del disolvente tanto en la corteza como en el núcleo de la célula y así las moléculas migran de un electrodo a otro (Stanley, 1991).

El tiempo de tratamiento se define como el tiempo efectivo durante el cual los microorganismos son sometidos al campo de fuerza. Se expresa como el producto del número de pulsos y la duración de estos y junto con la fuerza de campo, son los factores que determinan el efecto letal del tratamiento (Jayaram *et al.*, 1991; Barsotti y Cheftel, 1999). En el trabajo de Hamilton y Sale (1967) se comprobó que con un aumento en cualquiera de estas dos variables, hay un incremento en la disminución de la población microbiana.

3.2 *Factores del medio*

3.2.1 Conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica se define como la característica que posee cada alimento y es la facilidad con la que los electrones pueden pasar a través de él. Los alimentos líquidos poseen especies iónicas que tiene carga eléctrica y éstas permiten conducir la electricidad. Un incremento en la

conductividad eléctrica causa un incremento en la energía administrada y por lo tanto en la temperatura durante el proceso (Rhulman *et al.*, 2001).

De acuerdo al trabajo realizado por Barbosa-Cánovas *et al.*, (1999), los alimentos con conductividades eléctricas grandes, generan picos de campos eléctricos menores en la cámara de tratamiento, lo que se traduce en una disminución de la fuerza de campo verdadera y por lo tanto se presenta menos inactivación; por esto cuando se trata un alimento con mayor conductividad se debe aumentar el voltaje para que se mantenga la fuerza deseada.

Jayaram *et al.*, (1992) experimentaron con *Lactobacillus brevis* y demostraron que a mayor conductividad del alimento, la resistencia de la cámara de tratamiento se redujo, lo cual reduce el ancho del pulso y disminuye el rango de inactivación. También un incremento en la diferencia de conductividad entre el medio y el citoplasma microbiano debilita la membrana debido al incremento en el flujo de sustancias iónicas a través de ésta.

3.2.2 *pH*

El pH del medio tratado es un factor del cual se han realizado muchos estudios; algunos autores han observado que la inactivación de microorganismos está directamente relacionada con el pH ácido del medio (Wouters *et al.*, 1999; Álvarez *et al.*, 2002) y otros han comprobado la falta de dependencia entre el pH y el poder de inactivación de los pulsos eléctricos (Heinz y Knorr, 2001; Smith *et al.*, 2002). Sin embargo, se asume que, cuando se presenta inactivación a pH ácido, cambia la capacidad de la célula para mantener su gradiente de pH transmembrana debido a la formación de poros.

Se ha visto influencia sobre la inactivación cuando se usa un pH ácido y al variar el tipo de microorganismo. En el estudio realizado por García *et al.* (2005) se observa mayor sensibilidad con pH ácido en bacterias Gram-positivas debido a la pérdida de continuidad de la membrana y la posterior desestabilidad del pH tanto intra como extra-celular que afecta al resto de sus componentes. Por otra parte, las bacterias Gram-negativas son más resistentes ya que la composición de éstas actúa como una barrera.

3.2.3 *Actividad de agua*

Se ha reportado que al disminuir la actividad de agua del alimento aumenta la resistencia de los microorganismos, ya que el agua sale de la célula y se observa una reducción en el volumen de ésta (Álvarez *et al.*, 2002). También se cree que debido a la reducción de la a_w , se disminuye la permeabilidad y la fluidez de la membrana (Neidhardt *et al.*, 1990).

También se ha observado que la reducción de microorganismos se ve afectada por el componente adicionado para disminuir la a_w . En un estudio se observó que, al adicionar glicerol para obtener una actividad de agua de 0.93, se produjo una mayor sensibilidad por parte de los microorganismos en comparación con la adición de sacarosa para obtener la misma a_w . Se estableció que ésta sensibilidad es debido a la capacidad que tiene el glicerol, por su bajo peso molecular, para pasar a través de la membrana por difusión pasiva (Álvarez *et al.*, 2006).

3.2.4 *Composición del medio*

Ya que se han estudiado diversos medios de tratamientos con muchas composiciones y variando algunos factores, no se ha podido llegar a conclusiones específicas para cada componente alimenticio.

De igual forma, factores como la composición del alimento afectan a estos tratamientos y debido a ello, Grahl y Markl (1996) proponen que la grasa actúa como factor protector de los microorganismos al aplicar pulsos eléctricos, esto es debido a que cuanto más contenido de grasa tiene el alimento (leche), menor conductividad presenta éste. De igual forma, Picart *et al.*, (2002) experimentaron con *L. monocytogenes* inoculada en leche con distintos contenidos de grasa y crema, y tratadas con pulsos eléctricos, y encontrando que el contenido de grasa muestra un efecto protector para *L. monocytogenes*. Sin embargo, otros autores observaron que no hay relación entre la sensibilidad de los microorganismos y la adición de grasa y proteína. Esto puede ser debido a que el experimento se llevó a cabo en soluciones buffer y no en alimentos (Reina *et al.*, 1998; Pol *et al.*, 2001).

3.3 Factores biológicos

3.3.1 Tipo de célula

La inactivación de microorganismos por pulsos eléctricos se ha estudiado ampliamente, y se ha demostrado que hay diferentes grados de inactivación para bacterias, mohos y levaduras, siendo las esporas bacterianas las más resistentes (Raso *et al.*, 1998; Aronsson y Rönnér, 2001; Wouters *et al.*, 2001). Dicha resistencia se debe a que la envoltura de la espora previene la permeabilización causada por el tratamiento ya que para que se inactive la germinación de la espora, el protoplasma debe de salir de la envoltura (Hamilton y Sale, 1967; Álvarez *et al.*, 2006).

La efectividad de este proceso también depende de las características de los microorganismos. Se ha comprobado que las células eucariotas son más sensibles que las procariotas, además, en la fase de crecimiento, los microorganismos son más sensibles que en cualquiera de sus otras fases (Zhang *et al.*,

1994; Pothakamury *et al.*, 1995; Pothakamury *et al.*, 1996).

3.3.2 Tamaño y forma de la célula

Los microorganismos poseen diferente grado de resistencia; el cual se encuentra directamente relacionado con el tamaño y la forma de la célula. Lado y Yousef (2002) establecen que no sólo existe diferencia en la resistencia entre los diversos microorganismos si no que además, existe una diferencia entre cepas bacterianas.

Con el trabajo realizado por Zimmerman *et al.*, (1974) se comprobó que entre más pequeña sea la célula, más resistencia posee debido a que se presenta un menor valor de potencial de membrana inducido por un campo externo.

También es considerada la orientación espacial de los microorganismos dentro del campo eléctrico al estudiar la eficiencia de este tratamiento como función de la forma de la célula (Heinz *et al.*, 2001).

4. Los alimentos y los pulsos eléctricos

4.1 Inactivación de microorganismos

Los primeros experimentos con pulsos eléctricos en alimentos se realizaron en leche, jugos de frutas y huevo líquido para obtener mayor seguridad y por lo tanto, extender su vida de anaquel (Raso *et al.*, 1998; Jin y Zhang, 1999; Evrendilek *et al.*, 2004; Fernández-Molina *et al.*, 2006; Evrendilek *et al.*, 2009).

Se considera que los pulsos eléctricos afectan a la membrana citoplasmática, lo que lleva a la formación de poros, filtración de componentes celulares y muerte. Este efecto puede ser reversible o irreversible dependiendo de la intensidad del tratamiento. Se debe de sobrepasar el valor límite de fuerza

de campo para inducir un potencial transmembrana crítico de -1 V. Se requiere una fuerza de campo de 30 kV/cm para la mayoría de las bacterias en un medio líquido; tratamientos con pulsos eléctricos con mayor fuerza de campo, resultan en una reducción del ancho de membrana, la formación de poros y por último, una gran pérdida de viabilidad celular (Heinz, et al., 2002). En experimentos realizados por Simpson *et al.* (1999) y Wouters *et al.* (2001) se miden efectos irreversibles, resultado de los tratamientos por pulsos eléctricos sobre el punto crítico; se observa que estos tratamientos afectan severamente la integridad de la célula. Este efecto fue demostrado a través de mediciones de viabilidad celular, integridad de la membrana y gradiente celular de pH.

Diversos autores reportan que los microorganismos que son sometidos a tratamientos por pulsos eléctricos no vuelven a regenerar su membrana celular y por lo tanto no pueden causar daños en el alimento y al consumidor (Simpson *et al.*, 1999; Russell *et al.*, 2000; Ulmer *et al.*, 2002). Un ejemplo de estos microorganismos es la *E. coli*, la cual se sometió a un tratamiento de pulsos con una frecuencia de 2 Hz y tiempo de 2 μ s (García *et al.*, 2002).

Puig *et al.* (2007) comprobaron que con un mayor tratamiento e intensidad de campo se observa una disminución de 2 a 4 ciclos logarítmicos para diferentes microorganismos, cuando se somete mosto inoculado a un tratamiento de pulsos eléctricos con una fuerza de 35 kV/cm, durante un tiempo de 5 μ s y 300 Hz de frecuencia.

En otro trabajo realizado por Zhang *et al.*, (1994) comprobaron la reducción de 4 ciclos logarítmicos de *S. cerevisiae* inoculado en jugo de manzana en un sistema por lotes de pulsos eléctricos con un volumen de 25.7 mL, cuando se aplicaron 20 pulsos de onda

cuadrada de 260 J/pulso. De la misma manera Qin *et al.*, (1995) reportaron una disminución de 6 ciclos logarítmicos de *S. cerevisiae* en jugo de manzana bajo las siguientes condiciones: campo de 45 kV/cm, ancho de pulso 2.5 s, frecuencia de pulso 1 Hz, y espacio entre electrodos de 0.6 cm. La temperatura se mantuvo a 30 °C.

Jeantet *et al.* (1999) lograron disminuir el crecimiento de *Salmonella* por 3.0 ciclos logarítmicos cuando se sometió a tratamiento con pulsos eléctricos con 35 kV/cm y con 8 pulsos de disminución exponencial durante 9 ms y con una frecuencia de 900 Hz en un sistema de flujo continuo.

Raso *et al.* (1998) comprobaron que existe una disminución de menos de 1 ciclo logarítmico cuando se aplicó un tratamiento de pulsos eléctricos que consistió de 2 pulsos con una fuerza de 30 kV/cm a jugo de tomate inoculado con conidiosporas de *Byssochlamys fulva*, y manteniendo la temperatura por debajo de 23 °C.

4.2 Extracción

Desde épocas antiguas se ha aplicado la extracción de especies vegetales para obtener de manera pura los compuestos responsables de sus propiedades curativas o nutritivas. Para mejorar el proceso de extracción se han utilizado tratamientos que permiten un mayor rendimiento de estos compuestos. Entre estos tratamientos se encuentran el flujo turbulento del disolvente, tratamiento ultrasónico, entre otros (Kondrat'eva *et al.*, 1991). Sin embargo, en experimentos como el de Belaya *et al.*, (2006) se demuestran que al utilizar a los pulsos eléctricos como parte del proceso de extracción de antioxidantes de la manzana, se obtiene una mayor cantidad de compuestos fenólicos, reduciendo el tiempo de proceso y la temperatura de éste.

La extracción sólido-líquido es una operación unitaria utilizada para obtener componentes alimenticios como azúcares, aceites, antioxidantes, etc. (Bazhal y Vorobiev, 2000). La cantidad de componentes extraídos con el disolvente depende de la cantidad de células dañadas, lo cual a su vez afecta el rendimiento de la extracción. Es por esto que se requieren de otras técnicas como pre-tratamientos para la desintegración de las células. Sin embargo, es muy importante que no se afecte la calidad del compuesto a extraer con altas temperaturas o con disolventes con los cuales reaccione de manera indeseable, es por esto que se han estudiado, aunque no de manera amplia, a los pulsos eléctricos como pre-tratamiento para extracción.

Por medio del trabajo de algunos autores, se conoce que se incrementa el rendimiento de la extracción de compuestos a partir de manzanas, zanahorias y cocos cuando son sometidos a pulsos eléctricos como tratamiento previo al proceso de extracción (Bazhal y Vorobiev, 2000; Bazhal *et al.*, 2001; Knorr, 2003; Fincan *et al.*, 2004).

En el estudio realizado por López *et al.* (2007) se comprobó que la extracción de betanina por medio de pulsos eléctricos (5 pulsos de 2 μ s con un campo de 7 kV/cm), produce un rendimiento del 90%, lo que significó un rendimiento cinco veces mayor que sin este pre-tratamiento.

La aplicación de los pulsos eléctricos también puede tener lugar en la manufactura de vinos. En estudios realizados por López *et al.*, (2008) se observó una mejora en la extracción de compuestos fenólicos provenientes de las uvas. Por lo tanto, este tratamiento permite la realización de vinos con altos contenidos de compuestos fenólicos, los cuales tienen propiedades antioxidantes. La mejora en el rendimiento se debió a un incremento en la fuerza de campo eléctrico de 2 a 7 KV/cm.

Fincan y Dejmek (2003) estudiaron el efecto de los pulsos eléctricos sobre betabel para la extracción de pigmento rojo. Las condiciones bajo las cuales se extrajo el 90% del pigmento fueron con 270 pulsos rectangulares en 10 μ s a 1 kV/cm, con esto comprobaron que aumenta el rendimiento cuando se somete a un pre-tratamiento de pulsos eléctricos.

4.3 Otras aplicaciones

4.3.1 Deshidratación

Por mucho tiempo se ha buscado deshidratar frutas y hortalizas para extender su vida de anaquel y conservarla; esto, debido a que se previenen cambios bioquímicos y por lo tanto la contaminación del vegetal. La manera clásica de lograr la deshidratación de alimentos ha sido por calor; sin embargo el gasto energético de este proceso, puede ser importante (Bouzzara y Vorobiev, 2000). Por lo tanto, se busca reducir el tiempo de proceso implementando pre-tratamientos como el molido, blanqueado, aplicando altas presiones o pulsos eléctricos (Rastogi *et al.*, 1999; Bouzzara y Vorobiev, 2000; Lebovka *et al.*, 2007). Los pulsos eléctricos pueden ser utilizados como pre-tratamiento para la deshidratación ya que se mejora la transferencia de masa debido a un incremento en la permeabilidad de las células. El grado de electroporación y desintegración celular depende de diversos factores como tipo de alimento, intensidad del campo eléctrico, tipo de la onda, tiempo de tratamiento y número de pulsos (Rastogi, 2003).

Se han hecho varios estudios enfocados a la aplicación de esta tecnología para la deshidratación de especies vegetales, como es el caso de Gachovska *et al.*, (2008) en el cual estudiaron la deshidratación de zanahorias y observaron que el tiempo de deshidratación (hasta alcanzar una cantidad aceptable de

humedad) disminuyó de manera significativa ($p < 0.05$) cuando fueron pre-tratadas con pulsos eléctricos. Kehinde *et al.* (2003) reportaron una pérdida de agua del 14-60% para mitades de fresa pre-tratadas con pulsos eléctricos. También observaron que las fresas pre-tratadas mantienen sus propiedades de textura.

De la misma manera, Angersbach *et al.* (1997) reportaron una mejora en la transferencia de masa y en la deshidratación cuando se trató papa. Ade-Omowaye *et al.* (2003), encontraron que existe pérdida de agua de hasta 50% del total encontrado en pimiento dulce debido a un tratamiento combinado de pulsos eléctricos y la adición de componentes osmóticos como sucrosa, en comparación con tratamientos tradicionales de deshidratación osmótica con un total de hasta 30% de pérdida de agua.

4.3.2 Inactivación de enzimas

Otro de los usos que se les puede dar a los pulsos eléctricos es la inactivación de enzimas responsables de daños en alimentos. Muchas de éstas, son sensibles a altas temperaturas sin embargo, muchas otras como las lipasas producidas por el género *Pseudomonas*, son resistentes. Es por esto que se recomienda el uso de tratamientos no térmicos para su inactivación (Calderón-Miranda *et al.*, 1999; Bendicho *et al.*, 1999).

En el trabajo realizado por Bendicho *et al.*, (2002) se estudió el efecto de los pulsos eléctricos sobre la actividad de lipasa proveniente de *Pseudomonas fluorescens* en sistemas continuos y por lotes. En el sistema por lotes, comprobaron que la lipasa reduce su actividad en aproximadamente 60% con un tratamiento de 80 pulsos a 27.4 kV/cm. De la misma manera observaron en el sistema continuo, una reducción de la actividad de 13% con 80 pulsos a 37.3 kV/cm y con una frecuencia de 3.5 Hz. Algunos de los trabajos

realizados en leche fueron los realizados por Vega-Mercado *et al.*, (1995) en los cuales estudiaron la inactivación de proteasa hasta en un 60%, y de hasta un 90% de plasmina y fosfatasa alcalina después del tratamiento con pulsos eléctricos de alta intensidad. Ho *et al.*, (1997) observaron una disminución del 85% y 30% para lipasa y peroxidasa respectivamente. Sin embargo, en el mismo trabajo se observó un incremento en la actividad de la pepsina y lisozima.

Conclusiones

Los pulsos eléctricos pueden ser tratamientos no térmicos muy efectivos y como optimizadores de energía. Esta tecnología es muy versátil ya que puede aplicarse en procesos como extracción, deshidratación, inactivación de enzimas e inactivación de microorganismos.

En cuanto a la inactivación de microorganismos, se deben de realizar más estudios con más alimentos ya que muchos de éstos fueron conducidos en medios de cultivo, y en alimentos. Se deben de estandarizar las condiciones del proceso que se aplica, así como el equipo utilizado, ya que mientras algunos investigadores utilizan equipo comercial, otros utilizan equipo no comercial en el cual muchos factores no se encuentran estandarizados.

Tomando en consideración lo reportado en esta revisión, hay un gran campo de acción para la aplicación de los pulsos eléctricos y su combinación con otros tratamientos; así como su aplicación en gran cantidad de alimentos.

Se debería de considerar la aplicación de esta tecnología a nivel industrial, ya que permite mayor calidad en los productos a los cuales se les aplica este tratamiento así como que conserva sus propiedades nutricionales.

Agradecimientos

T.G. Cerón-Carrillo agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y a la Universidad de las Américas Puebla por el apoyo económico otorgado para sus estudios de posgrado.

Referencias

- Ade-Omowaye, B. I. O; Rastogi, N. K., Angerbasch, A., Knorr, D. 2003. Osmotic dehydration behavior of red paprika. *Journal of Food Science*. 67(5): 1790-1796. Citado en: Puértolas, E., López, N., Saldaña, G., Álvarez, I., y Raso, J. 2010. Evaluation of phenolic extraction during fermentation of red grapes treated by a continuous pulsed electric fields process at pilot-plant scale. *Journal of Food Engineering*. 98:120-125.
- Álvarez, I., Pagán, R., Raso, J., y Condón, S. 2002. Environmental factors affecting the inactivation of *Listeria monocytogenes* by pulsed electric fields. *Letters of Applied Microbiology* 35: 489-493.
- Álvarez, V. B., y Ji, T. 2003. Emerging technologies and processing and preservation technologies for milk and dairy products. En: G.F. Gutierrez-López y G.V. Barbosa-Cánovas (Eds). Food science and food technology. CRC Press. Boca Raton, FL. pp:313-327.
- Álvarez, I., Condón, S., y Raso, J. 2006. Microbial inactivation by pulsed electric fields. En: J. Raso y V. Heinz (Eds). Pulsed electric fields technology for the food industry. Springer Science and Business Media. Nueva York, NY, EUA. pp: 97-129.
- Angerbasch, A., Heinz, V., Knorr, D. 1997. Elektrische Leitfähigkeit als Maß des Zellaufschlusses von zellulären Materialien während der Verarbeitungsprozesse. *Lebensmittelverfahrenstechnik*. 42: 195-200. Citado en: Gachovska, T.K., Adediji, A.A., Ngadi, M., y Raghavan, G.V.S. 2008. Drying Characteristics of pulsed electric field-treated carrot. *Drying Technology*. 26: 1244- 1250.
- Aronsson, K., y Ronner, U. 2001. Influence of pH, water activity and temperature on the inactivation of *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* by pulsed electric fields. *International of Food Science of Technology*. 2: 105-112.
- Barbosa-Cánovas, G. V., Gongora-Nieto, M. M., Pothakamury, U. R., y Swanson, B. G. 1999. Preservation of foods with pulsed electric fields. Academic Press Ltd. London. EE UU. 654 p.
- Barbosa-Cánovas, G. V. y Altunakar, B. 2006. Pulsed electric fields processing of foods: An overview. En: J. Raso y V. Heinz (Eds). Pulsed electric fields technology for the food industry. Nueva York, NY. EUA. pp:3-21.
- Barroso-Espach, A., Barbosa-Cánovas, G. V., y Martín-Belloso, O. 2003. Microbial and enzymatic changes in fruit juice induced by high-intensity pulsed electric field. *Food Reviews International*. 19(3):253-273.
- Barsotti, L., Cheftel, J. C. 1999. Food processing by pulsed electric fields: 2. Biological aspects. *Food Reviews International*. 15(2):181-213.
- Bazhal, M., y Vorobiev, E. 2000. Electrical treatment of apple cossettes for intensifying juice pressing. *Journal of Science of Food and Agriculture*. 80: 1668-1674. Citado en: Lebovka, N., Praporsic, I., Ghnimi, S., y Vorobiev, E. 2005. Temperature enhanced electroporation under the pulsed electric field treatment of food tissue. *Journal of Food Engineering*. 60:177-184.
- Bazhal, M. I., Lebovka, N. I., y Vorobiev, E. 2001. Pulsed electric field treatment of Apple tissue during compression for juice extraction. *Journal of Food Engineering* 50: 129-139.
- Bazhal, M. I., Lebovka, N., Vorobiev, E. 2003. Optimization of pulsed electric field strength for the electroporation of vegetable tissues. *Biosystems Engineering*. 86(3), 339-345.
- Bendicho, S., Espachs, A., Stevens, D., Arantegui, J., y Martín, O. 1999. Effect of high intensity pulsed electric fields on vitamins of milk. European Conference of Emerging Food Science and Technology. Tampere, Finland. Pp: 108. Citado en: Bendicho, S., Estela, C., Giner, J., Barbosa-Cánovas, G.V., y Martín, O. 2002. Effects of high intensity pulsed electric field and thermal treatments on a lipase from *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Dairy Science* 85: 19-27.
- Bendicho, S., Espachs, A., Arantegui, J y Martín, O. 2002. Effect of high intensity pulsed electric fields and heat treatments on vitamins of milk. *Journal of Dairy Research* 69: 113-123.
- Belaya, N. I., Filippenko, T. A., Belyi, A. V., Gribova, N.Y. 2006. Electric field assisted extraction of

- antioxidant from bearberry leaves. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 40(9): 504-506.
- Bouzzara, H. y Vorobiev, E. 2000. Beet juice extraction by pressing and electric fields. *International Sugar Journal*. 102(1216): 195-200.
- Calderón-Miranda, M. L., Barbosa-Cánovas, G. V., y Swanson, B. G. 1999. Inactivation of *Listeria innocua* in liquid whole egg by pulsed electric field and nisin. *International Journal of Food Microbiology* 51: 7-17.
- Castro, A.J., Barbosa-Cánovas, G. V., y Swanson, B. G. 1993. Microbial inactivation of foods by pulsed electric fields. *Journal of Food Process and Preservation*. 17: 47-73.
- Doevenspeck, H. 1960. Verfahren und vorrichtung zur gewinnung der einzelnen phasen nus dispersen systemen. Patente alemana1.237.541. Citado en: G. V. Barbosa-Cánovas y Q. H. Zhang (Eds). Pulsed electric fields in food processing. Technomic publication. Lancaster, Pennsylvania.pp: 1-5.
- Dunn, J., 2001. Pulsed electric field processing: An overview. En: G. V. Barbosa-Cánovas y Q. H. Zhang (Eds). Pulsed electric fields in food processing, fundamental aspects and applications. Technomic Press. Lancaster, PA. Pp: 1-30.
- Evrendilek, G., Zhang, Q. H., y Richter, E. 2004. Application of pulsed electric fields to skim milk inoculated with *Staphylococcus aureus*. *Biosystems Engineering*. 87: 137-144.
- Evrendilek, J., Zhang, Q. H. 2005. Effects of pulse polarity and pulse delaying time on pulsed electric fields-induced pasteurization of *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Engineering*. 68: 271-276.
- Evrendilek G. A., Tok F. M., Soylu E. M., y Soylu S. 2009. Effect of pulsed electric field on germination tube elongation and spore germination of *Botrytis cinerea* inoculated into sour cherry juice apricot and peach nectar. *Italian Journal of Food Science*. 2(21):171-182.
- Fernández-Molina, J. J., Bermudez-Aguirre, D., Altunakar B., Swanson, B.G., y Barbosa-Cánovas, G.V. 2006. Inactivation of *Listeria innocua* and *Pseudomonas fluorescens* by pulsed electric fields in skim milk. Energy requirements. *Journal of Food Engineering*. 29: 561.
- Fincan, M., y Dejmek, P. 2002. In situ visualization of the effect of a pulsed electric field on plant tissue. *Journal of Food Engineering*. 55: 223-230.
- Fincan, M., y Dejmek, P. 2003. Effect of osmotic pretreatment and pulsed electric field on the viscoelastic properties of potatoe tissue. *Journal of Food Engineering*. 59: 169-175. Citado en: Lebovka, N., Praporscic, I., Ghnimi, S., y Vorobiev, E. 2005. Temperature enhanced electroporation under the pulsed electric field treatment of food tissue. *Journal of Food Engineering*. 60:177-184.
- Fincan, M., DeVito, F., Dejmek, P. 2004. Pulsed electric Field treatment for solid-liquid extraction of red beetroot pigment. *Journal of Food Engineering*. 64: 381-388.
- Gachovska, T. K., Adedeji, A.A., Ngadi, M., y Raghavan, G.V.S. 2008. Drying Characteristics of pulsed electric field- treated carrot. *Drying Technology*. 26: 1244- 1250.
- García, D., Gómez, S., Cón don, J., Raso, J. y Pagán, R. 2002. Pulse electric field cause sublethal injury in *Escherichia coli*. *Letters in Applied Microbiology*. 36:140-144.
- García, D., Gómez, N., Mañas, P., Condón, S., Raso, J., y Pagán, R. 2005. Occurrence of sublethal injury after pulsed electric fields depending on the microorganisms, the treatment medium pH and the intensity of the treatment investigated. *Journal of Applied Microbiology*. 99:94-104.
- Grahl, T., y Markl, H. 1996. Killing of microorganisms by pulsed electric field. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 45: 148-57.
- Hamilton, W. A. y Sale, A.J. H. 1967. Effects of high electric field in microorganisms II. Mechanism of action of the lethal effect. *Biochim Biophys Acta*. 789-800.
- Heinz, V. y Knorr, D. 2001. Development of nonthermal methods for microbial control. En: S.S. Block (Ed). Desinfection, sterilization and preservation. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia E.U. pp. 853-877.
- Heinz, V., Álvarez, I., Angerbasch, A., y Knorr, D. 2001. Preservation of liquid foods by high intensity pulsed electric fields-basic concepts for process design. *Trends of Food Science and Technology*. 12:103-111.
- Heinz, V., Álvarez, I., Angerbasch, A., y Knorr, D. 2002. Preservation of liquid foods by high intensity pulsed electric fields: basic concepts for process design. *Trends of Food Science*. 12:103-111.
- Ho, S., Mittal, G. S., Cross, J. D. y Griffiths, M. W. 1995. Inactivation of *Pseudomonas fluorescens* by

- high voltage electric pulses. *Journal of Food Science*. 60: 1337-1340.
- Ho, S. Y., Mittal, G. S., y Cross, J. D., 1997. Effects of high field electric pulses on the activity of selected enzymes. *Journal of Food Engineering*. 31(1):69-84.
- Ho S y Mittal G. J. 2000. High voltage pulsed electrical field for liquid food pasteurization. *Food Reviews International*. 16(4):395-434.
- Hülshager, H., Pottel, J., y Niemann, E. G. 1981. Killing of bacteria with electric pulses of high field strength. *Radiation and Environmental Biophysics*. 20:53-65.
- Hülshager, H., Potel, J., y Niemann, E. G. 1983. Electric field effects on bacteria and yeast cells. *Radiation and Environmental Biophysics*. 22, 149-162.
- Institute of Food Technologists (IFT). 2001. Effect of preservation technologies and microbial inactivation in foods. En: *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Vol. 2. En: www.ift.org. Accesado 10/02/10.
- Jayaram, S.H., Castle, G. S. P., y Margaritis, A. 1991. Effects of high electric field pulses on *Lactobacillus brevis* at elevated temperatures. *IEEE Industry Applications Society. Meet.* 5:674-681.
- Jayaram, S., Castle, G. S. P., y Margaritis, A. 1992. Kinetics of sterilization of *Lactobacillus brevis* cells by the application of high voltage pulses. *Biotechnology and Bioengineering*. 40(11):1412-1420.
- Jeanet, R., Baron, F., Nau, F., Roignant, M., y Brulé, G. 1999. High intensity pulsed electric fields applied to egg white: effect on *Salmonella enteritidis* inactivation and protein denaturation. *Journal of Food Protection*. 62: 1381-1386.
- Jeyamkondan, S., Jayas, D. S. y Holley, R. A. 1999. Pulsed electric field processing of food. *Journal of Food Protection*. 62: 1088-1096.
- Jin, Z. T., y Zhang, Q. H. 1999. Pulsed electric field inactivation of microorganisms and preservation of quality of cranberry juice. *Journal of Food Processing and Preservation*. 23:481.
- Kehinde, A., Taiwo, M. Estiaghi, B, Ade-Omowaye, O, Knorr, D. 2003. Osmotic dehydration of strawberry halves: influence of osmotic agents and pretreatment methods on mass transfer and products characteristics. *International Journal of Food Science and Technology*. 38: 693- 707.
- Kondrat'eva, L. A., Ivanova, L. A., Zelikson, I. 1991. Technology of ready to use medicinal forms. *Drug Technology*. 2: 250-400.
- Knorr, D. 2003. Impact of non-thermal processing on plant metabolites. *Journal of Food Engineering*. 56: 113-134. Citado en: López, N., Puértolas, E., Condón, S., Raso, J., y Álvarez, I. 2009. Enhancement of the extraction of betanine from red beetroot by pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*. 90:60-66.
- Knorr, D., Angersbach, A., Eshtiaghi, M. N., Heinz, V., y Lee, D. U. 2001. Processing concepts based on high intensity electric pulses. *Trends of Food Science and Technology*. 12: 129-135.
- Lado, B. H., y Yousef, A. E. 2002. Alternative food preservation technologies: Efficacy and mechanism. *Microbes and Infection*. 4: 433-440.
- Lebovka, N. I., Shynkaryk, N. V., Vorobiev, E. 2007. Pulsed electric field enhanced drying of potato tissue. *Journal of Food Engineering*. 78(2): 606-613.
- Lebovka, N. I., Bazhal, M. I., y Vorobiev, E. 2002. Estimation of characteristic damage time of food materials in pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*. 54:337-346.
- Liang, Z., Mittal, G. S., y Griffiths, M. W. 2002. Inactivation of *Salmonella typhimurium* in orange juice containing antimicrobial agents by pulsed electric fields. *Journal of Food Protection*. 65: 1081-1087.
- López N., Puértolas, E., Álvarez, I., y Raso, J. 2007. Effects of pulsed electric fields on the extraction of phenolics compounds during the fermentation of must of Tempranillo grapes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. Doi: 10.1016/j.ifset.2007.11.001. Citado en: López, N., Puértolas, E., Condón, S., Raso, J., y Álvarez, I. 2009. Enhancement of the extraction of betanine from red beetroot by pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*. 90:60-66.
- Lopez, N., Puertolas, E., Copndón, S., Alvarez, I., Raso, J. 2008. Application of pulsed electric fields for improving the maceration proccess during vinification of red wine: influence of grape variety. *European Food Research and Technology*. 227(4): 1099-1107.

- Neidhardt, F. C., Ingraham, J. L., y Schaechter, M. 1990. The effects of temperature, pressure, and pH. En: Physiology of the bacterial cell. A Molecular Approach. Sinauer Associated. Sunderland, MA. pp: 226-246.
- Picart, L., Dumay, E., y Cheftel, J. C. 2002. Inactivation of *Listeria innocua* in dairy fluids by pulsed electric fields: influence of electric parameters and food composition. *Innovation of Food Science and Emerging Technology*. 3: 357- 369.
- Pothakamury, U. R., Monsalve-González, 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.
- Pothakamury, U. R., Vega, H., Zhang, Q., Barbosa-Cánovas, G. V., y Swanson, B. G. 1996. Effect of growth stage and processing temperature on the inactivation of *Escherichia coli* by pulsed electric fields. *Journal of Food Protection*. 59(11): 1167-1171.
- Pol, I. E., Mastwijk, H. C., Slump, R. A., Popa, M. E., y Smid, E. J. 2001. Influence of food matrix on inactivation of *Bacillus cereus* by combination of nisin, pulsed electric treatment and carvacol. *Journal of Food Protection*. 64: 1012-1018.
- Puig, A., Marselles, R., Olmos, P., Martín, O y Minguez, S. 2007. Inactivación de la población microbiana de los mostos mediante tratamiento por pulsos eléctricos de alta intensidad de campo. *International Symposium: Microsafetywine*. 21 y 22 de noviembre. Villafranca del Penedes, España.
- Qin, B., Chang, F., Barbosa-Cánovas, G. V., y Swanson, B.G. 1994. Non-thermal inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in Apple juice using pulsed electric fields. *Journal of Food Science and Technology*. 28: 564.
- Qin, B. L., Zhang, Q., Barbosa-Cánovas, G. V., Swanson, B., y Pedrow, P. D. 1995. Pulsed electric field treatment chamber design for liquid food pasteurization using finite element method. *Transactions of the ASAE*. 38(2): 557-565.
- Raso J., Calderón-Miranda L., Góngora, M., Barbosa-Cánovas, G. V y Swanson, B. G. 1998. Inactivation of mold ascospores and conidiopores suspended in fruit juices by pulsed electric fields. *Lebens Wiss und Technol*. 31: 668.
- Raso, J., Góngora-Nieto, M. M., Calderón –Miranda, M.L., Barbosa-Cánovas, G. V. y Swanson, B. G. 1999. Resistant microorganisms to high intensity pulsed electric field pasteurization of raw milk. En *IFT Annual Meeting. Institute of Food Technologists*. Atlanta Georgia. En <http://ift.confex.com/ift/98annual/techprogram/acced/550.htm>. Accesada 10/02/2010.
- Rastogi, N. K. 2003. Application of high-intensity pulsed electrical fields in food processing. *Food Reviews International*. 19(3):229-251.
- Rastogi, N. K., Eshtiaghi M.N., y Knorr D. 1999. Accelerated mass transfer during osmotic dehydration of high intensity electrical field pulsed pretreated carrots. *Journal of Food Science*. 64(6):1020-1023.
- Reina, L. D., Jin, Z. T., Zhang, Q. H., y Yousef, A. E. 1998. Inactivation of *Listeria monocytogenes* in milk by pulsed electric field. *J. Food Prot*. 61: 1203-1206.
- Ruhlman, K. T., Jin, Z. T., y Zhang, Q. H. 2001. Physical properties of liquid foods for pulsed electric field treatment. En: G. V. Barbosa-Cánovas y Q. H. Zhang (Eds). Pulsed electric fields in food processing. Technomic Publishing Company, Inc. Lancaster, EUA. pp: 45-56.
- Russell, N. J., Colley, M., Simpson, R. K., Trivett, A. J. y Evans, R.I. 2000. Mechanism of action of pulsed high electric field on the membranes of food-poisoning bacteria is an “all or nothing” effect. *International Journal of Food Microbiology*. 55: 133-136.
- Sato, M., Ishida, N., Sugiarto, A., Oshima, T., y Taniguchi, H. 2001. High efficiency sterilizer by high voltage pulse using concentrated-field electrode system. *IEEE Transactions of Industry Applications*. 37(6): 1646-1650. Citado en: Barbosa-Cánovas, G.V. y Altunakar, B. 2006. Pulsed electric fields processing of foods: An overview. En: J. Raso y V. Heinz (Eds). Pulsed electric fields technology for the food industry. Nueva York, NY. EUA. p:3-21.
- Sepulveda, D., y Barbosa-Cánovas, G. V. 2005. Present status and the future of PEF technology. En: G.V. Barbosa-Cánovas, M.S. Tapia, y M.P. Cano (Eds). Novel Food Process Technologies. CRC Press, Boca Ratón, Fl. pp.1-45.
- Simpson, R. K., Whittington, R., Earnshaw, R. G. y Russel, N. J. 1999. Pulsed high electric field causes “all or nothing” membrane damage in *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium*, but membrane H-ATPase is not a primary target. *International Journal of Food Microbiology*. 48: 1-10.

- Smith, K., Mittal, G. S., y Griffiths, M. W. 2002. Pasteurization of milk using pulsed electrical field and antimicrobials. *Journal of Food Science*. 67: 2304-2308.
- Sobrinho-López, A., y Martín-Belloso, O. 2006. Enhancing inactivation of *Staphylococcus aureus* in skim milk by combining high intensity pulsed electric fields and nisin. *Journal of Food Protection*. 69: 345-353.
- Stanley, D. W. 1991. Biological membrane deterioration and associated quality losses in food tissues. *Critical Reviews of Food Science*. 30: 487-553.
- Ulmer, H. M., Herberhold, H., Fahsel, S., Ganzle, M. G., Winter, R. y Vogel, R. F. 2002. Effects of Pressure induced membrane phase transitions on inactivation of *HorA*, and ATP-dependent multidrug resistance transporter, in *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental Microbiology*. 68: 1088-1095.
- U.S. Food and Drug Administration. 2000. Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Disponible: <http://altered-states.net/barry/rife/pulsedelectricflds.htm>.
Adquirido: 17/01/10.
- Van Loey, A. B. V., y Hendrickx, M. 2002. Effects of high electric pulses on enzymes. *Trends of Food Science and Technology*. 12:94-102.
- Vega-Mercado, H., Powers, J. R., Barbosa-Cánovas, G. V., y Swanson, B. G. 1995. Plasmin inactivation with pulsed electric field. *Journal of Food Science*. 60: 1143-1146.
- Wouters, P. C., Dutreux, N., Smelt, J. P., y Lelieveld, H. L. M. 1999. Effects of pulsed electric fields on inactivation kinetics of *Listeria innocua*. *Applied Environmental Microbiology*. 65(12): 5354-5371
- Wouters P. C., Alvarez I y Rasos J. 2001. Critical factors determining unactivation kinetics by pulsed electric field food processing trends. *Science and Technology*. 12:112-121.
- Yin, Y., Zhang, Q. H. y Sastry, S.K. 1997. High voltage pulsed electric field treatment chambers for the preservation of liquid food products. *Ohio State University, US Patent 5,690,978*.
- Zhang, Q. H., Monsalve-Gonzalez, A., Barbosa-Cánovas G. V. y Swanson, B. G. 1994. Inactivation of *E.coli* and *S cerevisiae* by pulsed electric fields under controlled temperature conditions. *Transactions of the ASAE*. 2: 581.
- Zhang, Q. H., Barbosa-Cánovas, G. V., y Swanson, B.G. 1995. Engineering aspects of pulsed electric fields pasteurization. *Journal of Food Engineering*. 25(2):261-281.
- Zimmerman, U., Pilwat, G., y Riemann, F. 1974. Dielectric Breakdown in cell membranes. *Biophysical Journal*. 14(11): 881-889
- Zimmermann, U., Pilwat, G., Beckers, F., y Riemann, F. 1976. Effects of external electrical fields on cell membranes. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* 3: 58-83.