

CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS POR CAMPOS ELÉCTRICOS PULSADOS DE ALTO VOLTAJE

FOOD PRESERVATION USING HIGH-INTENSITY PULSED ELECTRIC FIELDS

José E. Zapata M.¹ - Olga L. Martínez² - Blanca C. Salazar³
German Moreno⁴ - Fernando Gallego⁵

RESUMEN

Se presenta una revisión bibliográfica sobre la utilización de campos eléctricos de alta intensidad (CEAI) en la conservación de alimentos; se detallan los mecanismos de acción de los CEAI para inactivar microorganismos, ilustrando las variables más importantes en el proceso y la tecnología necesaria para la generación de pulsos de muy corta duración y alta intensidad del orden de microsegundos y KV/cm; se da una mirada general al estado del arte de esa tecnología y sus posibilidades de implementación en Colombia, teniendo en cuenta la capacidad tecnológica local.

Palabras claves: Campos eléctricos, pulsos, inactivación microbiana, ruptura dieléctrica.

ASBTRACT

A bibliographical survey on electric fields for food conservation is presented;

a detailed description of microorganisms inactivation mechanisms caused by the electric fields action is done, illustrating the more important process variables and the technology for extremely short time and high level electric fields (of the order of microseconds and KV/cm); a general view to this technology state of art is given, by reference to the local technology and possibilities of implementation.

Keys words: electric field, pulse, microbic inactivation, dielectric break.

INTRODUCCIÓN

Desde la época en que Appert descubrió que por medio del calor se podía alargar la vida útil de los productos alimenticios, los métodos de tratamiento térmico han sido muy comunes en el procesamiento de alimentos. Esta tecnología apunta principalmente a la inactivación de microorganismos y enzimas, por sostenimiento de la temperatura del

1. Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, A.A. 1226, Medellín, Colombia, E mail: jezapata@muiscas.udea.edu.co, tel. 2 10 5474

2. Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, A.A. 1226, Medellín, Colombia, E mail: omarat@muiscas.udea.edu.co, tel. 2 10 54 77

3. Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, A.A. 1226, Medellín, Colombia, E mail: bsalazar@muiscas.udea.edu.co, tel. 2 10 54 76

4. Departamento de Ing. Eléctrica, Facultad de ingenierías, Universidad de Antioquia, A.A. 1226, Medellín, Colombia, E mail: gmoreno@jaibana.udea.edu.co, tel. 2 10 55 58

5. Departamento de Ing. Eléctrica, Facultad de ingenierías, Universidad de Antioquia, A.A. 1226, Medellín, Colombia, E mail: lgallego@jaibana.udea.edu.co, tel. 2 10 55 58

producto, entre 60-100°C, durante unos cuantos minutos o segundos. Así como esta, existen muchas otras formas de conservación de alimentos, tales como las bajas temperaturas, deshidratación, aditivos químicos, radiaciones ionizantes, etc. todas basadas principalmente en la inactivación de los microorganismos, ya que este es el agente más importante de deterioro de los productos alimenticios.

Actualmente en el mundo se ha creado una corriente en los consumidores, que prefieren los alimentos sin aditivos químicos y con un mínimo de procesamientos térmico (alimentos mínimamente procesados), por lo cual en los países desarrollados se han venido investigando nuevos métodos de conservación de alimentos, siendo de gran importancia los métodos no térmicos, tales como altas presiones, radiaciones ionizantes, pulsos de luz, pulsos magnéticos, pulsos de campos eléctricos, deshidratación osmótica, entre otros (1,2).

Una de las tecnologías más prometedoras es la utilización de campos de pulsos eléctricos de alta intensidad (CEAI) para inactivar los microorganismos, este por ser un método no térmico conserva las características organolépticas y nutricionales más importantes de los alimentos, además requiere cortos tiempos de aplicación. La investigación en este tema ha tomado un gran impulso en los últimos diez años, con aplicación a productos fluidos en pasterización principalmente, siendo muy efectiva para inactivar células vegetativas (3).

Se ha investigado el efecto que tienen los CEAI sobre muchos microorganismos

específicos, llegando a elucidar los cambios ocurridos a nivel de la membrana celular. Se han estudiado los requerimientos de los medios fluidos para poder someterse con éxito a este tratamiento, y los cambios que ocurren en ellos durante el mismo. La investigación actualmente está a nivel del diseño de cámaras de tratamiento con pulsos eléctricos y la aplicación en la pasterización de productos específicos (4,5).

ACCIÓN DE LOS CAMPOS ELÉCTRICOS DE ALTO VOLTAJE SOBRE LOS MICROORGANISMOS

Desde mediados del siglo pasado es bien conocido que la corriente eléctrica tiene influencia sobre la viabilidad y metabolismo de los microorganismos. Se demostró que el metabolismo de los mohos puede ser incrementado significativamente por efecto de la corriente. Sin embargo el efecto opuesto, es decir la muerte de los microorganismos, ha sido más extensamente estudiado (4).

El efecto bactericida o bacteriostático alcanzado como efecto de la aplicación de electricidad en un medio con microorganismos, se debe a tres fenómenos principalmente, estos son (4):

* El calentamiento que se produce por la transformación de la energía eléctrica inducida.

* Los productos de la electrólisis o radicales libres que pueden presentarse, los cuales dependen del material de los electrodos usados y la composición química del producto tratado.

* Un daño mecánico de la membrana celular bajo densidades de corriente suficientemente grandes, el cual ocurre cuando se usan pulsos de alto voltaje y extremadamente cortos.

En la década del 60', varios grupos de investigadores trabajaron en un proceso llamado "tratamiento electrohidráulico", con el propósito de matar microorganismos en soluciones acuosas; en donde se aplicaban altas intensidades de campos pulsantes usando descarga de condensadores, con la formación de arcos eléctricos y la expansión de plasma. La luz ultravioleta, reacciones electromecánicas y principalmente ondas de choque de hasta 5000 bares fueron identificados como responsables del efecto bactericida (4).

Se estudió la inactivación de *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, células vegetativas y esporas de *Bacillus subtilis* y el Bacteriófago *S. Cremoris* suspendidas en medio acuoso. La inactivación se debía a la aplicación de un tratamiento electrohidráulico de 8 a 15 kV, por medio de un par de electrodos con un espaciamiento de 0,125 pulgadas. Concluyéndose que el tratamiento electrohidráulico con descargas eléctricas de 10 kV a través del par de electrodos, produce reacciones de oxidación que inactivan las enzimas ácidoláctica deshidrogenasa, tripsina y proteinasas del *Bacillus subtilis*. Se observó que los grupos sulfhidrilo libres tales como los del glutatión reducido, y la forma reducida del nicotín adenín dinucleótido (NADH) también se oxidaban durante el tratamiento electrohidráulico. También se investigó en extractos de *E. coli* 8196 la actividad

de NADH-deshidrogenasa como una medida del efecto que sobre el sistema de transporte electrónico, tiene la aplicación de pulsos eléctricos. Además se estudiaron la succínico deshidrogenasa y hexoquinasa. El tratamiento aplicado fue suficiente para inactivar más del 90 % de la población bacteriana sin una inhibición significativa de la actividad individual de las enzimas (5).

Posteriormente investigaciones en Alemania y en Gran Bretaña lograron un avance significativo, al introducir la tecnología de campos pulsados, alcanzando reducciones sustanciales en los recuentos de células. Contrario al tratamiento de choque electrohidráulico, en el cual las descargas disruptivas se producen en el medio a tratar con el fin de matar los microorganismos, el uso campos eléctricos homogéneos de muy corta duración (campos pulsados), generan diferentes efectos sobre los sistemas biológicos, debido a la presencia del campo pero con un mínimo de corriente. Con los llamados "pulsos duros", pulsos de alta intensidad, las células animales y vegetales pueden ser destruidas, mientras que con los llamados "pulsos blandos", pulsos de baja intensidad, se puede incrementar el metabolismo de los microorganismos (4,6,7,8).

Se observó que los campos eléctricos de alto voltaje inactivaban a ciertos microorganismos: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus lysodeikticus*, *Sarcina lutea*, *Bacillus megaterium*, *Clostridium welchii*, *Sacharomyces cerevisiae*, y *Candida utilis*. Se aplicaron campos eléctricos de hasta 25 KV/cm en pulsos desde 2 a 20 μ s sobre suspensiones de los microor-

ganismos. La inactivación de la población bacteriana dependía de la intensidad del pulso eléctrico y del tiempo de tratamiento; además, describieron que la inactivación de las células bacterianas se debió a una ruptura de protoplastos acompañada de la salida del líquido intracelular. Las levaduras resultaron más sensibles al tratamiento que las células vegetativas (6,7,8).

El efecto de la aplicación de pulsos eléctricos sobre la membrana celular viene dado por la teoría del potencial. Esta teoría supone que el potencial inducido a través de la membrana depende del tamaño de la célula. Cuando el potencial de la membrana bacteriana alcanza el valor de 1 V se abren poros que permanecen abiertos después de retirado el potencial. De ello se deduce que dicho potencial es crítico para la inactivación de bacterias. Sin embargo, bacterias y levaduras no presentan el mismo comportamiento ante la inactivación celular por campos eléctricos. La inactivación microbiana por aplicación de pulsos eléctricos depende principalmente de las propiedades intrínsecas de las células microbianas tales como resistencia eléctrica y potencial de membrana (5,9).

Al aplicar pulsos eléctricos de alta intensidad para inactivar *Lactobacillus brevis* se concluyó que la destrucción de las células fue principalmente debida a la ruptura de la pared de la membrana inducida por campo y no al calentamiento óhmico. Exponiendo *E.coli*, *S.aureus*, *Bacillus subtilis*, y *Lactobacillus delbrueckii* a pulsos eléctricos de alta intensidad, utilizando un electroporador, se obtuvieron reducciones de 4 - 5 ciclos logarítmicos utilizando un alimento

modelo simulador de leche ultrafiltrada (SMUF). El máximo valor de campo aplicado fue 16 kV/cm y 60 pulsos con una duración de 200-300 segundos (10).

Ruptura de La Membrana Celular Por Efecto de Los Campos Eléctricos de Alto Voltaje. La aplicación de campos eléctricos de alto voltaje produce una lisis de la membrana celular (4,8). Los mecanismos que dan lugar a la ruptura han sido ampliamente estudiados, estos comprenden principalmente los siguientes (5,11,12).

Ruptura Dieléctrica: La polarización de la membrana en células viables producida por un campo eléctrico externo lleva a un incremento de la conductividad y permeabilidad de la membrana, el grado de permeabilidad depende de la intensidad y duración del campo aplicado. Cuando la membrana celular se expone a pulsos eléctricos de 1 a 10 kV/cm durante 20 ns a 10 ms, tiene lugar una ruptura eléctrica reversible, a este fenómeno se le llamó "golpe eléctrico reversible". La bicapa de la membrana celular es un material dieléctrico con una constante dieléctrica pequeña ($K=2$) comparada con la del agua ($K=80$). La aplicación de campos eléctricos produce un incremento del potencial a través de la membrana. Como resultado, se acumulan cargas opuestas en ambos lados de la membrana que se atraen entre sí. Esta atracción da lugar a una compresión que reduce el espesor de la membrana. Las fuerzas elásticas o viscoelásticas restauradoras se oponen a la electrocompresión. Cuando las fuerzas compresivas actúan más rápidamente, con disminución del espesor de membrana, que las fuerzas

elásticas restauradoras, se produce una ruptura local de la membrana. Esto ocurre al aplicar un campo eléctrico externo de intensidad 2-20 kV/cm. Cuando se retira el campo eléctrico, la membrana vuelve a su estado inicial normal. Si la duración del pulso es mayor que 10 - 15 ms, el daño a la membrana se vuelve irreversible (5,9).

El campo eléctrico externo induce un potencial sobre la membrana, el cual causa una separación de cargas en la membrana celular. Cuando el potencial a través de la membrana excede un valor crítico, de aproximadamente 1 voltio, la repulsión entre las moléculas cargadas causa la formación de poros en la membrana celular. El potencial a través de la membrana, y consecuentemente la fuerza de campo externo crítico, depende del tipo de célula biológica, del diámetro y forma, y condiciones de crecimiento. Cuando la fuerza de campo eléctrico es igual o solamente excede levemente el valor crítico, el incremento en permeabilidad de la membrana celular es reversible. Solamente cuando la fuerza del campo excede suficientemente el potencial crítico, la formación de poros es irreversible y se produce la muerte celular. Para células vegetativas la fuerza de campo crítica es del orden 15 kV/cm; por ejemplo, para *Lactobacillus brevis* y *E. coli*, la fuerza de campo crítica fue determinada como 13 kV/cm y 16 kV/cm respectivamente. Sin embargo, fuerzas de campo mucho mayores se requieren para la inactivación de ascó y endosporas (11).

Electroporación: Es el fenómeno por el cual, una célula expuesta a un campo eléctrico de alto voltaje sufre una desestabilización temporal de la bicapa

lipídica y las proteínas de su membrana (12,13). La consecuencia es la formación de poros en la membrana, por lo que ésta queda parcial o totalmente dañada. Se ha demostrado que un campo eléctrico de 2,2 kV/cm induce poros en los eritrocitos humanos de aproximadamente 1 nm de diámetro y se sugirió un mecanismo en dos pasos para la formación del poro: La perforación inicial es una respuesta al potencial eléctrico superior al umbral, seguida por una expansión del tamaño del poro dependiente del tiempo. La expansión del poro se facilita por el aumento en la intensidad del campo eléctrico y/o una baja fuerza iónica. El proceso de formación de poro es relativamente dependiente de la temperatura, en contraste con la gran influencia de la misma durante el proceso de cerrado del poro (5).

En la membrana celular hay canales proteicos, poros y burbujas, la apertura y el cierre de muchos canales proteicos depende del potencial eléctrico a través de la membrana. El potencial umbral para la formación de canales está alrededor de 50 mV, este potencial es más pequeño que la capacidad dieléctrica de la bicapa lipídica. Por ello, cuando se aplican pulsos eléctricos de 150-500 mV, muchos canales proteicos sensibles al voltaje se abren antes de que el potencial eléctrico a través de la membrana alcance el potencial de ruptura de la bicapa lipídica. Los canales proteicos una vez abiertos pueden experimentar corrientes mucho más grandes de las que pueden resistir. Como resultado, las proteínas constituyentes de los canales pueden desnaturalizarse irreversiblemente por el efecto Joule o por modificación eléctrica

de los grupos funcionales. Las bicapas de lípidos son sensibles a la aplicación de pulsos eléctricos debido a las cargas eléctricas de las moléculas lipídicas y a la permeabilidad de la bicapa a los iones. Las cargas eléctricas pueden inducir la reorientación de las moléculas de lípidos bajo un campo eléctrico intenso, formando poros hidrofílicos y dañando a la bicapa que sirve de barrera frente a los iones. Los iones conducen corriente generando así un calentamiento Joule local e induciendo un gradiente térmico en la bicapa lipídica. De este modo, la electroporación en la membrana celular puede tener lugar tanto en los canales proteicos como en las bicapas lipídicas (5).

El efecto que tienen los campos eléctricos sobre los microorganismos depende de la intensidad de campo aplicado y de otras variables tales como: El tamaño de las células (10), el tipo de célula (bacteria, levadura, etc), la composición del medio (10), la fase de crecimiento de los microorganismos (14), el tipo de electrodos (15), la forma de onda (15), la temperatura del medio (15), el número de pulsos (16).

GENERACIÓN DE PULSOS DE CAMPOS ELÉCTRICOS DE ALTA INTENSIDAD

La generación de campos de pulsos eléctricos requiere dos elementos principales: Un generador de impulsos y una cámara de tratamiento. El generador de impulsos consta una fuente de poder pulsada, en la cual el voltaje de bajo nivel es convertido a alto voltaje; luego la energía de bajo nivel es

recogida durante un periodo de tiempo y almacenada en un condensador, esta energía es descargada casi instantáneamente (en una millonésima de segundo). La principal función de la cámara de tratamiento es la de transferir el pulso de alto voltaje al alimento. Existen diferentes tipos de cámaras, desde los electrodos paralelos circulares, para funcionamiento continuo o discontinuo, hasta cámaras de electrodos cilíndricos concéntricos, para funcionamiento continuo (10), incluyendo electrodos del tipo plato - plato, aguja - plato, alambre - cilindro, barra - barra (15).

En la generación de pulsos de campos eléctricos para aplicación en alimentos, son de vital importancia las propiedades eléctricas y dieléctricas de los alimentos a tratar, el conocimiento de la intensidad de campo eléctrico efectivo para la inactivación de microorganismos, y el fenómeno de la ruptura dieléctrica (5).

Los materiales alimenticios son conductores eléctricos por su alta concentración de iones y su capacidad para transportar cargas eléctricas. Para generar pulsos eléctricos de alto voltaje, de varios kV/cm, a través de los alimentos debe pasar un gran flujo de corriente eléctrica a través de la cámara de tratamiento en un intervalo de tiempo muy corto (μ s). El tiempo entre pulsos es mucho más largo que la amplitud del pulso. Por lo tanto, la generación de pulsos implica cargas lentas y descargas rápidas de energía eléctrica almacenada en un condensador (5).

Cuando se aplican intensidades de campo iguales a la fuerza dieléctrica del

alimento, la ruptura dieléctrica entre los electrodos de la cámara de tratamiento se ve como una chispa. El paso de una chispa a través de un líquido se caracteriza por: El flujo de una cantidad de electricidad relativamente grande, una trayectoria luminosa de electrodo a electrodo, la evolución de burbujas de gas y la formación de pequeños hoyos en los electrodos y un incremento de presión a través del líquido acompañada por un sonido explosivo (5).

APLICACIÓN DE PULSOS ELÉCTRICOS DE ALTA TENSIÓN EN LA CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS

Los estudios realizados durante las décadas pasadas, y principalmente los resultados obtenidos durante los últimos diez años, acerca de la inactivación de microorganismos provocada por la aplicación de pulsos eléctricos, presagia el desarrollo de esta tecnología como alternativa al tratamiento térmico clásico, debido a que el alimento conserva, en mayor medida, sus características físicas, químicas y nutricionales. Además, es una atractiva aplicación de la electricidad, concretamente la de alta tensión, ya que es una tecnología con una alta eficiencia energética, cuyo desarrollo futuro podría conducir a importantes reducciones en el consumo energético de las industrias alimentarias. Sin embargo la aplicación industrial de esta tecnología requiere desarrollar aspectos de la ingeniería del proceso entre los que cabe destacar (17,18):

* Valores óptimos (y sus intervalos de variación admisible) del campo eléctrico

necesario para producir la inactivación de microorganismos en los distintos alimentos a tratar.

* Caracterización de los alimentos desde el punto de vista eléctrico (conductividad, constantes dieléctricas, tensión disruptiva, influencia de la temperatura).

* Diseño de las cámaras de tratamiento.

* Velocidad de circulación y régimen de flujo de los alimentos durante el tratamiento.

* Número total, frecuencia y forma de los pulsos eléctricos a aplicar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DALLAS, G. Hoover. Minimally Processed Fruits and Vegetables: Reducing Microbial Load by Nonthermal Physical Treatments. En: Foodtechnology. Volumen 51, No. 6, junio 1997, p 66.
2. MERMELSTEIN, Neil H. Interest in Pulsed Electric Field Processing Increases. En: Foodtechnology. Vol. 52 , No. 1, enero 1998.
3. MERMELSTEIN, Neil H. Processing Papers Cover Wide Range of Topics. En: Foodtechnology. Vol. 52 , No. 7, enero 1998.
4. GOULD, G. New Methods of Food Preservation. Blackie Academic & Professional. Londres, 1995, 324p.

5. MARTIN, O. *et al.* Review: Pulse electric fields of high to preserve foods. Microbiological and engineering aspects of the process. En: Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 34 (1), 1994, pp 1-34.
6. SALE y HAMILTON. Effects of high electric fields on microorganisms. I. Killing of Bacteria and Yeasts En: Bichimica et Biophysica Acta. 148, 1967, pp 781-788.
7. HAMILTON y SALE. Effects of high electric fields on microorganisms. II. Mechanism of Action of the Lethal Effect. En: Bichimica et Biophysica Acta. 148, 1967, pp 789-800.
8. SALE y HAMILTON. Effects of high electric fields on microorganisms. III. Lysis of erythrocytes and protoplast. En: Bichimica et Biophysica Acta. 163, 1968, pp 37-43.
9. POTHAKAMURY, U. MONSALVE, A. BARBOSA, G. y SWANSON, B. High voltage pulsed electric field inactivation of *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus delbrueckii*. En: Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 35 (1), 1995, pp 101-107.
10. QUIN, B. POTHAKAMURY, U. VEGA, O. MARTIN, O. BARBOSA, G. SWANSON. Food Pasteurization Using High Intensity Pulsed Electric Fields. En: Food Technology. Diciembre 1995, p. 155.
11. MERTENS Bars y KNORR Dietrich. Developments of Nonthermal Processes for Food Preservation. En: Food Technology. Mayo 1992, p 124.
12. POTHAKAMURY, U. *et al.* Ultrastructural changes in *Staphylococcus aureus* treated with pulsed electric fields. En: Food Science and Technology International. No.3, 1997, pp 113-121.
13. HOFMAN, G. Electronic genetic physical and biological aspects of cellular electromanipulation. En: IEEE Engineering in medicine and biology magazine. Dic. 1986, p6.
14. POTHAKAMURY, U. *et al.* Effect of Growth Stage and Processing Temperature on the Inactivation of *E. coli* by Pulsed Electric Fields. En: Journal of Food Protection. Vol. 59, No. 11, 1996, Pp 1167-1171.
15. MIZUMO, A. y HORI, Y. Destruction of Living Cells by Pulsed High Voltage Application. En: IEEE Transactions on Industry Applications. Vol. 24, No. 3, may. jun. 1988, pp 387-393.
16. PAGÁN, R. *et al.* Inactivation of *Bacillus subtilis* spores using high intensity pulsed electric fields in combination with other food conservation technologies. En: Food Science and Technology International. No.4, 1998, pp 33-44.
17. ROSELL, J. *et al.* Aplicación de los pulsos eléctricos de alta tensión para la conservación de alimentos. En: Alimentación, Equipos y Tecnología. Julio agosto 1998, pp 109-114.
18. QUIN, Bai lin, *et al.* Inactivating Microorganisms Using a Pulsed Electric Field Continuous Treatment System. En: IEEE Transactions On Industry Applications. Vol. 34 No. 1, enero 1998, p 13.