

REVISIÓN

Métodos físicos no tradicionales de control microbiológico aplicables al proceso de elaboración de hortalizas de IV Gama

Concepción Sánchez-Moreno^{1*}, Diana González-Peña¹, Clara Colina-Coca¹, Begoña de Ancos¹

¹ *Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). 28040, Madrid, España. *Correo electrónico: csanchezm@ictan.csic.es*

Recibido: 2015-10-03

Aceptado: 2017-10-18

Resumen

Las técnicas de control microbiológico más frecuentemente utilizadas en el proceso de elaboración de productos de IV gama son métodos químicos como los tratamientos con soluciones acuosas de ácido láctico, hipoclorito de sodio, clorito de sodio, dióxido de cloro estabilizado, ácido peroxiacético, peróxido de hidrógeno y ozono. También hay que destacar el envasado con atmósferas modificadas como método físico tradicionalmente utilizado para aumentar la vida útil de los vegetales de IV gama. Sin embargo, la demanda del consumidor actual de reducir el uso de aditivos químicos en los alimentos ha promovido que la industria de vegetales de IV gama investigue nuevos métodos de control microbiológico capaces de mantener la calidad organoléptica y nutricional del vegetal a la vez de inhibir de forma eficiente el crecimiento de microorganismos, tanto alterantes como patógenos, en todas las fases de la cadena de producción. Entre estos nuevos métodos destacan los métodos físicos denominados tecnologías no térmicas como radiación UV-C, luz pulsada, ultrasonido, agua electrolizada, plasma frío, alta presión hidrostática y pulsos eléctricos, así como nuevos métodos de envasado, como los recubrimientos y películas comestibles con antimicrobianos naturales. Por tanto, los avances en el desarrollo de nuevas tecnologías físicas de control microbiológico permitirán la elaboración de vegetales de IV gama más seguros, nutritivos, naturales y producidos por tecnologías sostenibles. Este valor añadido en los productos ayudará a las empresas que producen vegetales de IV gama a alcanzar un mayor beneficio económico.

Palabras clave: tecnologías no térmicas, hortalizas frescas cortadas, seguridad microbiológica, calidad sensorial, calidad nutricional

Non-traditional Physical Methods of Microbiological Control for the Process of Preparation of Fresh Cut Vegetables

Summary

Microbiological control methods most frequently used for the production of fresh-cut vegetables are chemical methods, which include treatments with water solutions of lactic acid, sodium hypochlorite, chlorine, chlorine dioxide, peroxyacetic acid, hydrogen peroxide, and ozone. It is also worth noting the use of modified atmosphere packaging as a physical method traditionally used to increase the shelf life of fresh-cut vegetables. However, current consumer demand to reduce the use of chemical additives to food has prompted the fresh-cut industry to investigate new methods of microbiological control capable of maintaining the organoleptic and nutritional quality of the vegetable while efficiently inhibiting the growth of microorganisms, both spoilage microorganisms and pathogens, in all the phases of the chain of production. These new methods known as non-thermal technologies include physical methods such as UV-C radiation, pulsed light, ultrasound, electrolyzed water, cold plasma, high hydrostatic pressure and electrical pulses, as well as new packaging methods, such as edible coatings and films with natural antimicrobials. Therefore, advances in the development of new physical technologies of microbiological control will allow the production of safer, nutritious, natural fresh-cut vegetables obtained by sustainable technologies. These added value products could help fresh-cut vegetables industries to obtain higher economic benefits.

Keywords: non-thermal technologies, fresh-cut vegetables, microbiological safety, organoleptic quality, nutritional quality

Introducción

Los productos vegetales de la IV gama, también llamados frescos cortados (fresh-cut) o mínimamente procesados, son productos vegetales acondicionados para su consumo directo mediante un proceso de varias etapas (selección, lavado del producto entero, pelado, cortado, lavado y desinfección, aclarado, secado, envasado y almacenamiento). Mantienen sus propiedades naturales y frescas, sin incorporar ningún tipo de aditivo ni conservante, y exigen como requisito imprescindible el mantenimiento de la cadena de frío para su perfecta conservación, con una vida útil en torno a los siete días. La producción de hortalizas de IV gama en España está constituida principalmente por ensaladas de lechugas de una única variedad (60 %), mezclas de lechuga y otras hortalizas para ensaladas (incluyendo col lombarda, zanahoria rallada, canónigos, escarolas, etc.) (17 %), hortalizas de pequeño tamaño y sabor intenso que se suelen denominar mini o baby (zanahorias, rabanitos, tomate cherry, etc.) (12 %), espinaca (7 %), acelga y zanahoria rallada (3 %), y en menor cantidad (1 %) cebolla, pimiento, puerro, mezcla para sopas, brotes, apio y brásicas (coles de bruselas, coliflor, brócoli y romanescu). En el sector HORECA (HOREstelería, REstauración y CAtering), los productos más populares son la patata y la cebolla cortada y está aumentando la demanda de lechuga (Monje, 2014; Aguerri-Esparza, 2014).

Un producto de IV gama o mínimamente procesado se debe someter a un tratamiento desinfectante con el objetivo de evitar el riesgo microbiológico sin alterar las propiedades químicas y físicas del vegetal. Las técnicas de desinfección más frecuentemente utilizadas hasta ahora en productos de IV gama son métodos químicos, entre los que se encuentran las soluciones acuosas de ácido láctico, hipoclorito de sodio, clorito de sodio, dióxido de cloro estabilizado, ácido peroxiacético, peróxido de hidrógeno y ozono. La desinfección con cloro (hipoclorito) a concentraciones entre 50-200 ppm (mg Cl/L) con tiempos de inmersión inferiores a cinco minutos es el tratamiento más utilizado en la industria de las hortalizas de IV gama por su eficacia en la reducción de la carga microbiana (Ramos et al., 2013). El cloro y sus derivados actúan mediante mecanismos de oxidación destruyendo la pared celular y finalmente la célula de los microorganismos. También pueden actuar sobre la materia orgánica presente en el agua de lavado produciendo vapores de cloro que pueden formar subproductos como los trihalometanos, ácido haloacético, halocetonas, y cloropicrina. Hay que indicar que el dióxido de cloro (ClO_2) se está utilizando como un alternativa al hipoclorito ya que puede ser utilizado

en concentraciones de hasta 3 ppm, es 2,5 veces más oxidante que el cloro y además no participa en las reacciones de cloración que dan lugar a los subproductos nocivos. Si bien no está demostrada la presencia de estos subproductos clorados nocivos en los productos de IV gama, en los últimos años ha aumentado significativamente la sensibilidad hacia estos subproductos clorados, por lo que en algunos países como Alemania, Holanda o Suiza se ha prohibido el uso de hipoclorito en la industria de vegetales de IV gama (Ramos et al., 2013).

Por tanto, para evitar o reducir los posibles efectos adversos de estos agentes químicos, la industria de los productos de IV gama ha visto la necesidad de investigar otros métodos de control microbiológico, entre los que destacan los métodos físicos como radiación UVC, luz pulsada, ultrasonido, agua electrolizada, plasma frío, alta presión hidrostática y pulsos eléctricos, así como nuevos métodos de envasado, como los recubrimientos y películas comestibles con antimicrobianos naturales (Rojas-Graü, Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2009; Martín-Belloso y Soliva-Fortuny, 2011; Ramos et al., 2013).

Luz UV y luz pulsada

La luz ultravioleta (UV) es una radiación no ionizante con una longitud de onda de 100 a 400 nm, que se clasifica en tres tipos: UVA (315-400 nm), UVB (280-315 nm) y UVC (200-280 nm). La radiación UVC tiene su máximo pico de emisión a 254 nm donde presenta su mayor acción germicida y ha sido estudiada en distintos tejidos vegetales (Artés y Allende, 2005).

La radiación UVC con lámparas germicidas (254 nm) se emplea principalmente como agente higienizante del agua y del aire, si bien también se está estudiando su aplicación directa sobre las hortalizas. Su efectividad depende de muchos factores, como la dosis administrada, la fuente de luz, la especie y el cultivar, entre otros (Rivera-Pastrana et al., 2007). De forma general, a dosis bajas (2 kJ/m^2) y cortos tiempos de exposición ha demostrado ser efectiva en la reducción de la carga microbiana de algunas hortalizas. Puesto que su capacidad de penetración es muy baja, sólo es efectiva en la superficie expuesta, requiriéndose su aplicación en un plano superior y otro inferior y en productos con formatos de poco espesor. Se ha estudiado el efecto de la radiación UVC sobre lechuga, tomate y zanahoria, demostrando su efectividad en la inactivación de microorganismos a dosis altas (7 kJ/m^2), siendo más efectiva sobre el tomate, que presenta una superficie lisa, que sobre la lechuga y la zanahoria, que presentaban una superficie más

porosa y rugosa. Sin embargo, se produjeron cambios indeseables en el color de los productos, como un pardeamiento en la lechuga (Bermúdez-Aguirre y Barbosa-Cánovas, 2013). La radiación UVC en lechuga fresca cortada demostró una reducción significativa de la población de *Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Salmonella enteritidis* y *Staphylococcus aureus* (1,75; 1,27; 1,39 y 1,21 log CFU/g, respectivamente) (Birmpa, Sfika y Vantarakis, 2013). Es interesante la respuesta de defensa de los vegetales inducida por la UVC ya que se incrementa la síntesis de compuestos fenólicos, antioxidantes y antisenescentes en numerosos vegetales como la zanahoria (Surjadinata, Jacobo-Velázquez y Cisneros-Zevallos, 2017). Resultados similares se han observado en otros productos como manzanas Royal Gala donde la aplicación de luz UVB y luz visible dio lugar a un aumento significativo de antocianinas y glicósidos de quercetina en la piel (Reay y Lancaster, 2001). Por tanto, el tratamiento de UVC puede considerarse como una herramienta complementaria a la refrigeración y al envasado para preservar la calidad organoléptica y nutricional, y aumentar la comercialización de hortalizas de IV gama o mínimamente procesadas. Generalmente la radiación UVC se ha aplicado en combinación con otras tecnologías como ozono para mejorar la capacidad bactericida del agua de lavado de las hortalizas (Selma et al., 2008).

La luz pulsada o pulsos de luz intensa consiste en la aplicación de destellos luminicos de corta duración y amplio espectro para la descontaminación superficial de los alimentos. Se han propuesto tres posibles mecanismos de acción: fotoquímico, fototérmico y fotofísico (Ramos-Villaruel, Martín-Belloso y Soliva-Fortuny, 2013). Según la Food and Drug Administration (FDA), los tratamientos no deben exceder los 12 J/cm² con una emisión espectral entre 180-1100 nm, desde la región ultravioleta a la del infrarrojo cercano, y una duración del pulso no superior a 2 ms; con la finalidad de asegurar la descontaminación microbiológica sobre la superficie de cualquier alimento o material de envasado (Elmnasser et al., 2007). Los factores críticos del tratamiento con luz pulsada sobre la inactivación microbiana son la fluencia (energía emitida desde la lámpara que incide en la muestra por unidad de superficie) y factores relacionados (distancia desde la fuente de luz a la muestra, naturaleza y grado de limpieza de la vía de propagación, espesor, transparencia y color de la muestra, longitud de onda, duración, y número de pulsos). Además, también influyen la topografía del alimento y la densidad microbiana y los productos metabólicos de los microorganismos, así

como el color y composición del alimento y el tipo de microorganismo (Oms-Oliu, Martín-Belloso y Soliva-Fortuny, 2010).

Son pocos los estudios realizados sobre el efecto de luz pulsada en frutas y hortalizas. Gómez-López et al. (2005) mostraron entre 0,56 y 2,04 reducciones logarítmicas en los recuentos de microorganismos aerobios mesófilos al tratar espinacas, apio, lechuga, repollo blanco, zanahorias, pimienta verde y brotes de soja con 7 J por ambos lados. Kaack y Lyager (2007) realizaron un estudio con zanahorias cortadas inoculadas con *Saccharomyces cerevisiae* que posteriormente fueron lavadas usando agua destilada y 0,9 % (p/p) de cloruro de sodio (NaCl) en combinación con pulsos de luz, concluyendo que esta combinación de tratamientos puede reducir la carga de levaduras cerca de seis ciclos logarítmicos utilizando tratamientos con una fluencia acumulada de 16,8 J/cm². Estos autores señalaron que existen diversos mecanismos que permiten a los microorganismos (bacterias, mohos y levaduras) fijarse al alimento. Un estudio reciente realizado por Ramos-Villaruel et al. (2012) demostró mediante microscopía electrónica de transmisión daños significativos en el citoplasma celular con cambios en la membrana citoplasmática de las células de *E. coli* y *L. innocua* inoculadas en champiñones frescos cortados expuestos a tratamientos de 12 J/cm². Estos autores observaron que las microfotografías obtenidas corroboraron los resultados de inactivación.

En cuanto a los cambios físico-químicos ocurridos después de los tratamientos por luz pulsada en frutas y hortalizas, también existen pocos trabajos. En este sentido, Dunn et al. (1989) señalaron que la aplicación de 2-5 pulsos de luz con una fluencia de 3 J/cm² permitió una mejor conservación del color de rodajas de patata después de un almacenamiento prolongado, mientras que las muestras no tratadas rápidamente comenzaron a pardearse. Estos autores señalaron que los pulsos de luz también pueden incrementar la tasa respiratoria de las hortalizas. Por otro lado, Hoonstra, De jong y Notermans (2002) no encontraron efectos adversos en la calidad sensorial de distintas hortalizas tratadas con tres pulsos y almacenadas a 7 y 10 °C durante siete días, con la excepción de la lechuga iceberg, la cual mostró signos de decoloración después de 48 h a temperatura de 20 °C. Por el contrario, Gómez-López et al. (2005) observaron pérdidas en la calidad sensorial de las lechugas y repollos mínimamente procesados tratados con luz pulsada, detectándose mal olor y sabor, textura húmeda y gomosa, pardeamiento en la superficie de las hojas y marchitamiento.

Ultrasonido

El ultrasonido son ondas mecánicas de vibración de una frecuencia superior a 20 kHz, inaudibles para el ser humano, y que pueden ser de dos tipos: tratamientos con ultrasonido de baja intensidad ($< 1 \text{ W / cm}^2$), que utilizan frecuencias entre 0,1-20 MHz, y tratamientos de ultrasonido de alta intensidad ($10\text{-}1000 \text{ W/cm}^2$), con frecuencias $< 0,1 \text{ MHz}$. El tratamiento con ultrasonido de alta intensidad utiliza frecuencias entre 20 y 100 kHz y se emplea como tratamiento antimicrobiano en el procesado de los alimentos. La aplicación de las ondas ultrasónicas en un medio líquido produce cambios de presión (compresión y expansión) que dan lugar a la cavitación, fenómeno físico que consiste en la formación y ruptura de burbujas de aire microscópicas que tiene un efecto destructivo sobre las células de los microorganismos presentes en el medio sonificado (São José et al., 2014).

El tratamiento de ultrasonido se suele combinar con calor (termosonicación), con presión (manosonicación), con presión y calor (manotermosonicación), con derivados de cloro, ácidos orgánicos o antimicrobianos naturales (vainillina, citral, etc.), con el fin de incrementar su efectividad en la inactivación microbiológica y enzimática, especialmente con enzimas resistentes al calor (Alexandre et al., 2011; Bilek y Turantaş, 2013).

La mayoría de los tratamientos por ultrasonidos se realizan con los vegetales (enteros o cortados) sumergidos en agua, sola o con aditivos, produciendo la descontaminación en las superficies de dichos vegetales (Birmpa, Sfika y Vantarakis, 2013; São José et al., 2014). Varios estudios sobre la aplicación de ultrasonidos de alta intensidad (20-45 kHz) y tiempos de tratamiento entre 1-10 min sobre lechuga, espinaca, zanahorias, trufas, y tomates, consiguiendo una reducción microbiológica entre 0,5 y 1,98 log CFU/g, según la hortaliza (Bilek y Turantaş, 2013). Birmpa, Sfika y Vantarakis (2013) encontraron reducciones de *E. coli* y *S. enteritidis* de más de 2 log CFU/g en lechugas de IV gama, además de mantener el aspecto general, firmeza y color después de una exposición máxima de 45 min. La aplicación combinada de ultrasonidos (10 W/L, 32-40 kHz, 10 min) con agua clorada (25 ppm cloro libre) mostró un mayor efecto descontaminante frente a distintos patógenos (*S. typhimurium*, *E. coli* y *L. monocytogenes*) inoculados en distintas hortalizas que cuando se aplican sólo los ultrasonidos (Seymour et al., 2002). Esto es debido a que la acción bactericida del ultrasonido obtenida gracias al fenómeno de la cavitación hizo a los patógenos más suscepti-

bles a la acción de agentes químicos como el cloro. También se han estudiado aplicaciones de ultrasonidos en combinación con ozono y radiación UVC (Alexandre, Brandão y Silva, 2013), ácidos orgánicos (Sagong et al., 2011), dióxido de cloro (Huang et al., 2006), peróxido de hidrógeno y ácido peracético (São José y Vanetti (2012), hipoclorito sódico, peróxido de hidrógeno y etanol (Rivera et al., 2011), y cloruro sódico acidificado (Zhou, Feng y Luo, 2009).

Alta Presión Hidrostática (APH)

La alta presión hidrostática es una de las tecnologías emergentes de procesado de alimentos con un mayor potencial de aplicación (Heinz y Buckow, 2010). La tecnología consiste en la aplicación de elevados niveles de presión hidrostática (100-1000 MPa) de forma continua durante tiempos relativamente cortos (de segundos a pocos minutos) en refrigeración, temperatura ambiente o combinada con tratamientos térmicos suaves ($< 50 \text{ }^\circ\text{C}$). El efecto de la APH sobre los alimentos es casi instantáneo y uniforme, además de ser independiente de la forma y tamaño del producto. El procesado por APH inactiva ciertas enzimas y microorganismos, incluso aquellos patógenos de alto riesgo para los consumidores, constituyendo una garantía de seguridad, y prolongando la vida útil de los alimentos (Georget et al., 2015). La elevada difusión de esta tecnología comparada con otras tecnologías no térmicas se debe a que tiene la característica de alterar de forma mínima las propiedades nutricionales y sensoriales de los alimentos en comparación con el efecto de las tecnologías térmicas, por lo que consigue seguridad microbiológica manteniendo la calidad y frescura de los alimentos sin necesidad de utilizar conservantes químicos o elevadas temperaturas (Oey et al., 2008; Sánchez-Moreno et al., 2009).

La principal aplicación de la APH en el procesado de alimentos vegetales se ha centrado en alimentos líquidos, como «smoothies», bebidas mixtas de leche y fruta, zumos de frutas y vegetales, purés de frutas y vegetales y sopas de vegetales (Cilla et al., 2012; Keenan et al., 2012; Espina et al., 2013; Hernández-Carrión et al., 2014; Chen et al., 2015). Sin embargo, su uso en frutas y hortalizas cortadas es más limitado, ya que los tratamientos por APH pueden producir cambios en la microestructura y pérdida de la integridad celular de los productos y en consecuencia cambios en la firmeza de los mismos. Estos cambios se deben a los procesos de compresión y expansión que tienen lugar durante el proceso de presurización que pueden causar la ruptura de los tejidos vegetales (Rico et al., 2007).

Entre los escasos estudios relacionados con la aplicación de la APH en hortalizas de IV gama, podemos citar el trabajo llevado a cabo por Wendakoon et al. (2010), que evaluaron el efecto de diferentes tratamientos de APH (300-700 MPa durante 10 min) sobre la inactivación de varios microorganismos y la calidad organoléptica de productos de zanahoria, pepino y lechuga frescos cortados. Estos tratamientos de APH de 400 MPa produjeron una reducción de 1,6 a 2,6 log CFU de bacterias, y de 3,5 a 5,3 log CFU de hongos en estas tres hortalizas frescas cortadas. Sin embargo, las zanahorias y los pepinos mostraron un ablandamiento y la lechuga un pardeamiento después de los tratamientos por APH. Por tanto, los tratamientos de APH fueron efectivos para la inactivación microbiológica pero causaron un deterioro de la calidad sensorial de estas hortalizas frescas cortadas.

Clariana et al. (2011) estudiaron el efecto combinado de tratamientos de APH y tratamientos térmicos (200, 400 y 600 MPa, 20 y 40 °C) sobre las propiedades sensoriales y nutricionales del nabo (*Brassica napus*). Además compararon estos tratamientos de APH con un tratamiento térmico (90 °C / 3 min). Todos los tratamientos dieron lugar a la pérdida de la textura y de la capacidad de retención de agua, produciéndose el mayor ablandamiento con el tratamiento a 400 MPa, mientras que el tratamiento a 600 MPa fue el que mejor preservó estas propiedades de textura, así como la capacidad antioxidante.

Un estudio de Zhou et al. (2014) evaluó los cambios microbiológicos y físico-químicos de calabaza tratada por APH (450 MPa / 15 min y 550 MPa / 10 min) y tratada térmicamente (85 °C / 5 min) durante la conservación refrigerada a 4 °C. El tratamiento de 550 MPa / 10 min fue el que mostró una mejor retención de color, vitamina C y actividad antioxidante. Durante la conservación a 4 °C los dos tratamientos de APH (550 MPa / 10 min, 450 MPa / 15 min) y el tratamiento térmico (85 °C / 5 min) garantizaron la seguridad microbiológica durante 60, 45 y 30 días, respectivamente. Sin embargo, el contenido de vitamina C, fenoles totales, firmeza, y actividad antioxidante disminuyó en todas las muestras tratadas, aunque, en general, las muestras tratadas por APH mantuvieron mejor el nivel de compuestos bioactivos que las tratadas térmicamente.

Como resumen, se podría decir que el principal reto para la aplicación de la APH en el procesado de hortalizas de IV gama es la selección apropiada de las variables del proceso o la combinación con otras tecnologías para evitar los efectos indeseables sobre la estructura celular de estas hortalizas que dan como resultado una disminución de la

firmeza del producto, por lo que hasta el momento el tratamiento por APH no se considera un proceso útil para el tratamiento de vegetales enteros o cortados frescos de IV gama.

Pulsos eléctricos

Los pulsos eléctricos de alto voltaje (PEAV) son una tecnología no térmica para el procesado de alimentos en la cual se coloca un alimento fluido o semifluido (inmerso en un medio conductor como el agua) entre dos electrodos por periodos cortos de tiempo (menos de un segundo, 1-10 μ s), aplicando un determinado número de pulsos de alto voltaje (20 a 80 kV / cm), produciendo una inactivación microbiológica y enzimática, manteniendo las características de color, sabor, textura y valor nutricional de los alimentos frescos, y alargando su vida útil (Morales de la Peña, Elez-Martínez y Martín-Belloso, 2011). La eficacia del tratamiento depende de los parámetros del tratamiento (intensidad, forma y número de pulsos, temperatura, tipo de cámara de tratamiento, etc.), de las características intrínsecas del microorganismo o enzima, y de las características físicas y químicas del alimento (Elez-Martínez et al., 2007; Saldaña et al., 2014). El mecanismo de inactivación microbiológica de los PEAV se basa en el fenómeno de la electroporación, por el cual la membrana celular de los microorganismos sufre la formación de poros que tiene como resultado la muerte celular. Los tratamientos PEAV se llevan a cabo a temperatura ambiente, o combinados con tratamientos térmicos suaves (< 60 °C). Para incrementar el efecto antimicrobiano de los PEAV es necesario que los alimentos líquidos o semi-líquidos presenten una baja conductividad eléctrica, un tamaño de partícula pequeño (< 20 mm), y que no formen burbujas de aire. Entre los estudios en alimentos líquidos o semi-líquidos destacan los llevados a cabo en leche (Sharma et al., 2014), yogurt (Gomes da Cruz et al., 2010), zumos de frutas y otros vegetales (Sánchez-Moreno et al., 2005; Buckow, Ng y Toepfl, 2013; Odriozola-Serrano et al., 2009, 2013), sopas (Vega-Mercado et al., 1996; Sánchez-Moreno et al., 2009), huevo líquido (Espina et al., 2014) y vino (Puértolas et al., 2010).

Sin embargo, la aplicación de PEAV (20-80 kV / cm) en alimentos sólidos con el fin de reducir o eliminar la carga microbiológica de los mismos es prácticamente inexistente debido a la dificultad que tiene el diseño de las cámaras de tratamiento para trabajar en estas condiciones. Las principales aplicaciones de los pulsos eléctricos en alimentos sólidos se realizan en condiciones de bajo voltaje o baja intensidad (0,7-3 kV / cm). Así, los pulsos eléctricos de bajo

voltaje se han utilizado en vegetales enteros como pretratamiento para mejorar procesos de extracción (zumos de frutas, compuestos bioactivos, aceite de oliva), deshidratación osmótica (pimientos) o secado (zanahoria, patata, pimiento) (Janositz, Noack y Knorr, 2011; Maskooki y Eshtiaghi, 2012; Barba et al., 2015).

Los estudios sobre la utilización de los pulsos eléctricos de bajo voltaje (0,7-3 kV / cm) como método de desinfección o higienización de productos de la IV gama son escasos (Goyal y Siddiqui, 2014; Shayanfar et al., 2014). Shayanfar et al. (2014) mostraron que el efecto de un tratamiento por pulsos eléctricos (1,5 kV / cm, 100 pulsos, 4 Hz) fue efectivo para la higienización de manzana fresca cortada, preservando mejor el color y la textura que un tratamiento por APH (600 MPa / 2 min).

Los pulsos eléctricos de baja voltaje (0,7-3 kV / cm) sobre vegetales enteros se están utilizando para incrementar sus características antioxidantes debido al aumento de la síntesis de compuestos bioactivos como los compuestos fenólicos como respuesta al estrés abiótico que produce el tratamiento. Así, seleccionando las condiciones del tratamiento por pulsos eléctricos (0,4 kV / cm) y el tiempo y temperatura de conservación en refrigeración (12 h a 4 °C) adecuados se consigue incrementar un 58 % la concentración de flavonoides en manzana entera (Soliva-Fortuny et al., 2017). También se ha descrito que el tratamiento por pulsos eléctricos de bajo voltaje (2 kV / cm) combinado con un aditivo desinfectante (60 ppm de ácido peracético) puede ser útil no sólo para incrementar la concentración de compuestos bioactivos (10 % antocianinas y 25 % fenoles totales) en arándanos, sino también para producir reducciones significativas de la microbiota nativa (2 log/g) y de patógenos inoculados como *Escherichia coli* y *Listeria innocua* (3 log/g) (Jin, Yu y Gurtler, 2017).

Plasma frío

El plasma es un gas ionizado que se genera por la aplicación de un campo eléctrico o electromagnético a un gas (aire, oxígeno, nitrógeno, argón, helio) donde los electrones colisionan con las moléculas o átomos del gas produciendo su ionización. Además, los electrones producen disociación molecular dando lugar a átomos y radicales libres. Por tanto, el plasma está compuesto por moléculas y átomos en estado o no de excitación, iones positivos y negativos, radicales libres, electrones, radiación UV, etc. Además, cuando el gas es oxígeno y nitrógeno, también se forman especies reactivas de oxígeno y nitrógeno como ozono, superóxido, radicales hidroxilo, oxígeno singlete,

oxígeno atómico, óxido nítrico, dióxido de nitrógeno, etc. Todas estas especies presentan capacidad para inactivar una amplia gama de microorganismos como bacterias, mohos, levaduras, esporas e incluso virus (Ehlbeck et al., 2011; Alkawareek et al., 2014). El potencial del plasma frío para inactivar microorganismos de la superficie de los vegetales (rugosidad y porosidad) (Niemira, 2012) dependerá de las condiciones de tratamiento y del tipo de gas utilizado para generar el plasma (Baier et al., 2014). Se puede concluir que el grado de inactivación microbiana aumenta con la energía aportada, el contenido en humedad y la velocidad de flujo del gas empleado, así como con la presencia de oxígeno en el gas o mezcla de gases usados (Bermúdez-Aguirre et al., 2013).

Además del efecto antimicrobiano del plasma frío también se ha estudiado el efecto de estos tratamientos sobre distintos parámetros relacionados con la calidad del producto tratado. En este sentido, Wang et al. (2012) evaluaron el efecto de la aplicación de plasma atmosférico frío sobre rodajas de pepino, zanahoria y pera con *Salmonella* inoculada. Los autores mostraron que tratamientos de 2 min produjeron una inactivación cercana al 90 % en las rodajas de zanahoria, y del 80 % en las rodajas de pepino y pera. El contenido de agua, los parámetros relacionados con el color, y el contenido de vitamina C se afectaron mínimamente, considerando los cambios aceptables.

Baier et al. (2014) evaluaron el efecto antimicrobiano del plasma de argón (10 kV, 20 kHz, 30 s-60 s) en ensalada de maíz, manzana, pepino y tomate inoculada con *E. coli*, alcanzando una reducción de 3 log CFU. La reducción eficiente de bacterias vegetativas pareció estar limitada a los 20-30 s iniciales del tratamiento. Además estos tratamientos cortos también produjeron una mejor retención de la calidad sensorial, y una mejora del status microbiológico del producto.

En otro estudio, Fernández, Noriega y Thompson (2013) utilizaron nitrógeno para generar el plasma frío con el fin de inactivar *Salmonella typhimurium* en diferentes productos frescos. Los resultados mostraron una reducción bacteriana muy significativa de 2,72, 1,76, y 0,94 log CFU en lechuga, fresas y patata, respectivamente después de 15 min. Resultados muy similares a estos fueron obtenidos para inactivar *E. coli* en lechuga, tomates y zanahorias expuestos a un plasma atmosférico frío obtenido a partir de argón (3,95 kV-12,83 kV, 60 Hz, 30 s-10 min), produciéndose una reducción de 1,6 log CFU después del tratamiento de mayor voltaje y de más duración (10 min), en lechuga y tomate (Bermúdez-Aguirre et al., 2013). En este estudio se

obtuvieron mejores resultados de inactivación en el tomate, seguido de la lechuga, y de la zanahoria, probablemente debido a las diferencias de la superficie de los diferentes vegetales. En cuanto a los parámetros de color, no mostraron cambios significativos después del procesado.

Baier et al. (2015) evaluaron el efecto directo del plasma frío obtenido con aire sobre manzanas, pepinos, tomates y zanahorias enteras dentro de una cámara de exposición, con un tiempo de tratamiento de hasta 10 min, sobre microorganismos nativos e inoculados. Después de 5 min de aplicación del plasma frío, el recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales se redujo $3,4 \pm 0,4$; $1,2 \pm 0,5$; $5,2 \pm 0,5$ y $3,3 \pm 0,5$ log CFU en manzanas, pepinos, zanahorias, y tomates, respectivamente. Después de 10 min de tratamiento, se produjo una reducción de *E. coli* inoculada de $4,6 \pm 2,0$ y $6,0 \pm 0,8$ log CFU en manzanas y zanahorias, respectivamente. Los tomates y las zanahorias mostraron cambios significativos en el color, y los pepinos cambios en los parámetros relacionados con la eficiencia fotosintética, medidos a través de las imágenes de fluorescencia de la clorofila. Por tanto, el tratamiento con el plasma frío fue adecuado para las manzanas, que se vieron mínimamente afectadas, y menos para zanahorias, ya que, si bien se consiguió una inactivación microbiológica elevada, el tratamiento produjo efectos indeseables en la superficie.

Por otro lado, una aplicación muy importante del plasma frío en la elaboración de productos frescos cortados es su utilización en productos previamente envasados (Pankaj et al., 2014). En este sentido, se ha comprobado que la aplicación del plasma frío en tomates cherry (Misra et al., 2014a) y fresas (Misra et al., 2014b) dio lugar a una reducción importante de su carga microbiana. Además, este ha sido el objetivo de un proyecto del Séptimo Programa Marco de la Unión Europea denominado «Utilización de plasma frío para descontaminar frutas y hortalizas cortadas» (SAFE-BAG) (2011-2014). En el marco de este proyecto se ha construido un prototipo a escala de planta piloto basado en la utilización de plasma frío para la descontaminación de frutas y hortalizas frescas envasadas en bolsas que ya está preparada para su validación a nivel industrial.

Recubrimientos y películas comestibles

Los recubrimientos y las películas comestibles son una herramienta útil para mejorar la calidad de los alimentos vegetales mínimamente procesados, debido a que forman una barrera semipermeable que reduce la pérdida de agua y de solutos, controlan el intercambio gaseoso, incluida la

velocidad de respiración (O_2 y CO_2) y la emisión de etileno, y disminuyen el riesgo de contaminación microbiológica, los desórdenes fisiológicos, los cambios bioquímicos relacionados con reacciones oxidativas (pardeamiento enzimático) y la pérdida de firmeza (Tapia et al., 2008; Vargas et al., 2008; Rojas-Graü, Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2009; Oms-Oliu et al., 2010; Valencia-Chamorro et al., 2011; Dahall, 2013).

Un recubrimiento comestible se define como el revestimiento de un producto vegetal con una o varias capas finas de material polimérico natural y comestible, mientras que la película comestible es también una capa (o varias) fina de material polimérico comestible pero que es primero preformada y después colocada sobre el alimento o entre componentes del mismo (Valencia-Chamorro et al., 2011).

Los recubrimientos y las películas comestibles son biopolímeros que se pueden agrupar en tres categorías (Dahall, 2013): 1) *hidrocoloides*, que están constituidos por polisacáridos (derivados de celulosa, almidón, quitosano, alginatos, carragenanos, gelanos, pectinas de fruta) y proteínas de origen animal (gelatinas, caseínas y albúminas o proteínas de suero de leche) o de origen vegetal (soja, zeína de maíz); 2) *lípidos*, generalmente son ceras (carnauba, abeja), ácidos grasos y monoglicéridos; en vegetales mínimamente procesados, los lípidos se combinan con hidrocoloides capaces de formar películas; 3) *composites o compuestos*, son formulaciones mixtas de hidrocoloides y lípidos.

Los recubrimientos con derivados de celulosa se han utilizado en numerosos vegetales frescos cortados como manzana, patata (Baldwin et al., 1996; Pérez-Gago et al., 2005) y brócoli (Moreira et al., 2011), entre otros productos. También se han utilizado recubrimientos con almidón de distinto origen (tapioca, patata, etc.) con hortalizas mínimamente procesadas como zanahoria (Lai, Chen y Lai, 2013) o brócoli (Moreira et al., 2011). Recubrimientos y películas comestibles de quitosano se han utilizado para aumentar la vida útil de zanahoria en tiras (Simoes et al., 2009) o calabaza (Ponce et al., 2008). Por otro lado, se han utilizado recubrimientos combinados de quitosano con pectinas, recubrimientos de carragenanos, alginatos y gelanos en distintas frutas cortadas (Oms-Oliu, Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2008; Oms-Oliu et al., 2010; Rojas-Graü, Soliva-Fortuny y Martín Belloso, 2009; Brasil et al., 2012; Elsabee y Abdou, 2013; Hamzah et al., 2013; Mantilla et al., 2013; Robles-Sánchez et al., 2013), siendo su uso menos abundante en hortalizas cortadas. También

se han utilizado recubrimientos y películas comestibles a base de proteínas como caseinatos de calcio y proteínas de suero de leche en combinación con polisacáridos en varios productos como manzana cortada (Pérez-Gago, Serra y Del Río, 2006).

En la actualidad, los recubrimientos y películas comestibles están siendo utilizados como vehículos para incorporar a los productos de la IV gama aditivos naturales para mantener la textura, antimicrobianos, antioxidantes o ingredientes bioactivos, como vitaminas, minerales, ácidos grasos, probióticos, etc. (Rojas-Graü, Soliva-Fortuny y Martín Belloso, 2009). El uso de recubrimientos o películas comestibles con los antimicrobianos incorporados en su matriz polimérica incrementa el efecto antimicrobiano debido a que se mantiene la concentración activa de los mismos en la superficie de los vegetales durante más tiempo. Los antimicrobianos que pueden ser incorporados en las matrices de los recubrimientos y películas comestibles se pueden dividir en distintas categorías como ácidos orgánicos (ácidos acético, láctico, benzoico, propiónico), ésteres de ácidos grasos (monolaurato de glicerol), polipéptidos (lisozimas, lactoferrina, nisina), aceites esenciales de plantas o especies (EOs) (canela, orégano, hierba limón, ajo, etc.), o sus principios activos (citral, eugenol, vainillina, cinamaldehído, carvacrol, etc.), entre otros. Respecto a los aceites esenciales, su utilización puede tener el grave inconveniente de transferir al producto sabores y olores no compatibles con la naturaleza del mismo (Rojas-Graü, Soliva-Fortuny y Martín Belloso, 2009). Se ha descrito la aplicación de recubrimientos o películas comestibles antimicrobianas a distintas hortalizas cortadas como calabaza (Santos et al., 2016) o brócoli (Álvarez, Ponce y Moreira, 2013). Las líneas principales de investigación actuales se dirigen a la incorporación y/o liberación controlada de aditivos funcionales y antimicrobianos naturales utilizando nanotecnologías como la microencapsulación y la formación de nanopelículas mediante el sistema de multicapas (López-Rubio, Gavara y Lagarón, 2006; Brasil et al., 2012; Mantilla et al., 2013).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado en el marco de la Red CYTED HORTYFRESCO (113RT0480): Producción artesanal de hortalizas de IV y V gama: inocuidad y valor funcional.

Bibliografía

- Agueri-Esparza, I. (2014). *Análisis de la situación actual del consumo de productos de IV gama en Pamplona*. Universidad Pública de Navarra. Recuperado de <http://academica-e.unavarra.es/bitstream/handle/2454/15402/629258.pdf?sequence=1>Alexandre
- Alexandre, E. M. C., Brandão, T. R. S. y Silva, C. L. M. (2013). Impact of non-thermal technologies and sanitizer solutions on microbial load reduction and quality factor retention of frozen red bell peppers. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 17, 199-205.
- Alexandre, E. M. C., Santos-Pedro, D. M., Brandão, T. R. S. y Silva, C. L. M. (2011). Study on thermosonication and ultraviolet radiation processes as an alternative to blanching for some fruits and vegetables. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 1012-1019.
- Alkawareek, M. Y., Gorman, S. P., Graham, W. G. y Gilmore, B. F. (2014). Potential cellular targets and antibacterial efficacy of atmospheric pressure non-thermal plasma. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 43, 154-160.
- Álvarez, M. V., Ponce, A. G. y Moreira, M. R. (2013). Antimicrobial efficiency of chitosan coating enriched with bioactive compounds to improve the safety of fresh cut broccoli. *LWT-Food Science and Technology*, 50, 78-87.
- Artés, F. y Allende, A. (2005). Processing lines and alternative preservation techniques to prolong the shelf-life of minimally fresh processed leafy vegetables. *European Journal of Horticultural Science*, 70, 231-245.
- Baier, M., Ehlbeck, J., Knorr, D., Herppich, W. B. y Schlüter, O. (2015). Impact of plasma processed air (PPA) on quality parameters of fresh produce. *Postharvest Biology and Technology*, 100, 120-126.
- Baier, M., Görgen, M., Ehlbeck, J., Knorr, D., Herppich, W. B. y Schlüter, O. (2014). Nonthermal atmospheric pressure plasma: Screening for gentle process conditions and antibacterial efficiency on perishable fresh produce. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22, 147-157.
- Baldwin, E. A., Nisperos, M. O., Chen, X. Y. y Hagenmair, R. D. (1996). Improving life of cut apple and potato with edible coating. *Postharvest Biology and Technology*, 9, 151-163.
- Barba, F. J., Parniakov, O., Pereira, S., Wiktor, A., Grimi, N., Boussetta, N., ... y Vorobiev, E. (2015). Current applications and new opportunities for the use of pulsed electric fields in food Science and industry. *Food Research International*, 77, 773-798.
- Bermúdez-Aguirre, D. y Barbosa-Cánovas, G. V. (2013). Disinfection of selected vegetables under nonthermal treatments: Chlorine, acid citric, ultraviolet light and ozone. *Food Control*, 29, 82-90.
- Bermúdez-Aguirre, D., Wemlinger, E., Pedrow, P., Barbosa-Cánovas, G. y García-Pérez, M. (2013). Effect of atmospheric pressure cold plasma (APCP) on the inactivation of *Escherichia coli* in fresh produce. *Food Control*, 34, 149-157.
- Bilek, S. E. y Turantış, F. (2013). Decontamination efficiency of high power ultrasound in the fruit and vegetable industry: A Review. *International Journal of Food Microbiology*, 166, 155-162.
- Birmpa, A., Sfika, V. y Vantarakis, A. (2013). Ultraviolet light and ultrasound as non-thermal treatments for the inactivation of microorganisms in fresh ready-to-eat foods. *International Journal of Food Microbiology*, 167, 96-102.
- Brasil, I. M., Gomes, C., Pureta-Gomez, A., Castell-Perez, M. E. y Moreira, R. G. (2012). Polysaccharide-based multilayered antimicrobial edible coating enhances quality of fresh-cut papaya. *LWT-Food Science and Technology*, 47, 39-45.
- Buckow, R., Ng, S. y Toepfl, S. (2013). Pulsed electric field processing of orange juice: A review on microbial, enzymatic, nutritional, and sensory quality and

- stability. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12, 455-467.
- Chen, J., Zheng, X., Dong, J., Chen, Y. y Tian, J. (2015). Optimization of effective high hydrostatic pressure treatment of *Bacillus subtilis* in Hami melon juice. *LWT-Food Science and Technology*, 60, 1168-1173.
- Cilla, A., Alegría, A., De Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Cano, M. P., Plaza, L., ... y Barberá, R. (2012). Bioaccessibility of tocopherols, carotenoids and ascorbic acid from milk and soya-based fruit beverages: Influence of food matrix and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 7282-7290.
- Clariana, M., Valverde, J., Wijngaard, H., Mullen, A. M. y Marcos, B. (2011). High pressure processing of swede (*Brassica napus*): Impact on quality properties. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12, 85-92.
- Dahall, R. K. (2013). Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53, 435-450.
- Dunn, J. E., Clark, R. W., Asmus, J. F., Pearlman, J. S., Boyer, K., Painchaud, F. (1989). *Methods for preservation of food-stuffs*. US Patent No. 4871559. San Diego: United States Patent and Trademark Office.
- Ehlbeck, J., Schnabel, U., Polak, M., Winter, J., Von Woedtke, T., Brandenburg, R., ... y Weltmann, K. D. (2011). Low temperature atmospheric pressure plasma sources for microbial decontamination. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 44, 013002.
- Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O. M., Rodrigo, D., y Sampedro, F. (2007). Impact of pulsed electric fields on food enzymes and shelf-life. En H. L. M. Lelieveld, S. Notermans y S. W. H. de Haan (eds.). *Food Preservation by Pulsed Electric Fields: From Research to Application* (pp. 212-246). New York: CRC-Press.
- Elmasser, N., Guillou, S., Leroi, F., Orange, N., Bakhrouf, A. y Federighi, M. (2007). Pulsed-light system as a novel food decontamination technology: A review. *Journal of Microbiology*, 53, 813-821.
- Elsabee, M. Z. y Abdou, E. (2013). Chitosan based edible films and coatings: A review. *Material Sciences and Engineering*, 33, 1819-1841.
- Espina, L., García-Gonzalo, D., Laglaoui, A., Mackey, B. M. y Pagán, R. (2013). Synergistic combinations of high hydrostatic pressure and essential oils or their constituents and their use in preservation of fruit juices. *International Journal of Food Microbiology*, 161, 23-30.
- Espina, L., Monfort, S., Álvarez, I., García-Gonzalo, D. y Pagán, R. (2014). Combination of pulsed electric fields, mild heat and essential oils as an alternative to the ultrapasteurization of liquid whole egg. *International Journal of Food Microbiology*, 189, 119-125.
- Fernández, A., Noriega, E. y Thompson, A. (2013). Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on fresh produce by cold atmospheric gas plasma technology. *Food Microbiology*, 33, 24-29.
- Georget, E., Sevenich, R., Reineke, K., Mathys, A., Heinz, V., Callanan, M., ... y Knorr, D. (2015). Inactivation of microorganisms by high isostatic pressure processing in complex matrices: a review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 27, 1-14.
- Gomes da Cruz, A., De Assis Fonseca Fariaa, J. A., Isay Saadb, S. M., André Bolinia, H. M., Souza Santa'Ana, A. y Cristianinia, M. (2010). High pressure processing and pulsed electric fields: Potential use in probiotic dairy foods processing. *Trends in Food Science and Technology*, 21, 483-493.
- Gómez-López, V. M., Devlieghere, F., Bonduelle, V. y Debevere, J. (2005). Intense light pulses decontamination of minimally processed vegetables and their shelf-life. *International Journal of Food Microbiology*, 103, 79-89.
- Goyal, A., y Siddiqui, S. (2014). Effects of ultraviolet irradiation, pulsed electric field, hot water dip and ethanol vapours treatment on keeping and sensory quality of mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek) sprouts. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 2664-2670.
- Hamzah, H. M., Osman, A., Tan, C. P. y Ghazali, F. M. (2013). Carragenan as an alternative coating for papaya (*Carica papaya* L. cv. Esotika). *Postharvest Biology and Technology*, 75, 142-146.
- Heinz, V. y Buckow, R. (2010). Food preservation by high pressure. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 5, 73-81.
- Hernández-Carrión, M., Tárrega, A., Hernando, I., Fiszman, S. M. y Quiles, A. (2014). High hydrostatic pressure treatment provides persimmon good characteristics to formulate milk-based beverages with enhanced functionality. *Food and Function*, 5, 1250-1260.
- Hoonstra, E., De Jong, G. y Notermans, S. (2002). Preservation of vegetables by light. En *Conference frontiers in microbial fermentation and preservation* (pp. 75-77). The Netherlands: Wageningen.
- Huang, T., Xu, C., Walker, K., West, P., Zhang, S. y Weese, J. (2006). Decontamination efficacy of combined chlorine dioxide with ultrasonication on apples and lettuce. *Journal of Food Science*, 71, 134-139.
- Janositz, A., Noack, A.-K. y Knorr, D. (2011). Pulsed electric fields and their impact on the diffusion characteristics of potato slices. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 1939-1945.
- Jin, T. Z., Yu, Y. y Gurtler, J. B. (2017). Effects of pulsed electric field processing on microbial survival, quality change and nutritional characteristics of blueberries. *LWT-Food Science and Technology*, 77, 517-524.
- Kaack, K. y Lyager, B. (2007). Treatment of slices from carrot (*Daucus carota*) using high intensity white pulsed light. *European Food Research and Technology*, 224, 561-566.
- Keenan, D. F., Rößle, C., Gormley, R., Butler, F. y Brunton, N. P. (2012). Effect of high hydrostatic pressure and thermal processing on the nutritional quality and enzyme activity of fruit smoothies. *LWT-Food Science and Technology*, 45, 50-57.
- Lai, T. Y., Chen, C. H. y Lai, L. S. (2013). Effects of tapioca starch/decolorization hsiantsa leaf gum based active coatings on the quality of minimally processed carrots. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 249-258.
- López-Rubio, A., Gavara, R. y Lagarón, J. M. (2006). Bioactive packaging: Turning foods into healthier foods through biomaterials. *Trends in Food Science and Technology*, 17, 567-575.
- Mantilla, N., Castell-Pérez, M. E., Gomes, C. y Moreira, R. G. (2013). Multilayered antimicrobial edible coating and its effect on quality and shelf-life of fresh-cut pineapple (*Ananas comosus*). *LWT-Food Science and Technology*, 51, 37-43.
- Martín-Belloso, O. y Soliva-Fortuny, R. (2011). *Advances in fresh-cut fruits and vegetables processing*. Florida: CRC Press.
- Maskooki, A. y Eshtiagh, M. N. (2012). Impact of pulsed electric field on cell disintegration and mass transfer in sugar beet. *Food and Bioproducts Processing*, 90, 377-384.
- Misra, N. N., Keener, K. M., Bourke, P., Mosnier, J. P. y Cullen, P. J. (2014a). In-package atmospheric pressure cold plasma treatment of cherry tomatoes. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 118, 177-182.
- Misra, N. N., Patil, S., Moiseev, T., Bourke, P., Mosnier, J. P., Keener, K. M. y Cullen, P. J. (2014b). In-package atmospheric pressure cold plasma treatment of strawberries. *Journal of Food Engineering*, 125, 131-138.
- Monje, M. (2014). IV gama, crecimiento lento, pero firme. *Revista alimarket*, (282), 120-125.
- Morales de la Peña, M., Elez-Martínez, P. y Martín-Belloso, O. (2011). Food preservation by pulsed electric fields: An engineering perspective. *Food Engineering Reviews*, 3, 94-107.

- Moreira, M. R., Ponce, A., Ansorena, R. y Roura, S. I. (2011). Effectiveness of edible coatings combined with mild heat shocks on microbial spoilage and sensory quality of fresh cut broccoli (*Brassica oleracea* L.). *Journal of Food Science*, 76, M367-M373.
- Niemira, B. A. (2012). Cold plasma decontamination of foods. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3, 125-142.
- Odrizola-Serrano, I., Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R. y Martín-Belloso, O. (2013). Pulsed electric fields processing effects on quality and health-related constituents for plant-based foods. *Trends in Food Science and Technology*, 29, 98-107.
- Odrizola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., Hernández-Jover, T. y Martín-Belloso, O. (2009). Carotenoid and phenolic profile of tomato juices processed by high intensity pulsed electric fields compared with conventional thermal treatments. *Food Chemistry*, 112, 258-266.
- Oey, I., Van Der Plancken, I., Van Loey, A. y Hendrickx, M. E. (2008). Does high-pressure processing influence nutritional aspects of plant based food systems? *Trends in Food Science and Technology*, 19, 300-308.
- Oms-Oliu, G., Martín-Belloso, O. y Soliva-Fortuny, R. (2010). Pulsed light treatments for food preservation: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 3, 13-23.
- Oms-Oliu, G., Rojas-Graü, M. A., Alandes González, L., Varela, P., Soliva-Fortuny, R., Hernando Hernando, M. I., ... y Martín-Belloso, O. (2010). Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. *Postharvest Biology and Technology*, 57, 139-148.
- Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R. y Martín-Belloso, O. (2008). Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pear. *Postharvest Biology and Technology*, 50, 87-94.
- Pankaj, S. K., Bueno-Ferrer, C., Misra, N. N., Milosavljevic, V., O'Donnell, C. P., Bourke, P., ... y Cullen, P. J. (2014). Applications of cold plasma technology in food packaging. *Trends in Food Science and Technology*, 35, 5-17.
- Pérez-Gago, M. B., Serra, M., Alonso, M., Mateos, M. y Del Río, M. A. (2005). Effect of whey protein- and hydroxypropyl methylcellulose-based edible composite coatings on color change of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*, 39, 84-92.
- Pérez-Gago, M. B., Serra, M. y Del Río, M. (2006). Color change of fresh-cut apples coated with whey protein concentrate-based edible coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 39, 84-92.
- Ponce, A. G., Roura, S. I., Del Valle, C. E. y Moreira, M. R. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: *In vitro* and *in vivo* studies. *Postharvest Biology and Technology*, 49, 294-300.
- Puértolas, E., López, N., Condón, S., Álvarez, I. y Raso, J. (2010). Potential applications of PEF to improve red wine quality. *Trends in Food Science and Technology*, 21, 247-255.
- Ramos, B., Miller, F. A., Brandao, T. R. S., Teixeira, P. y Silva, C. L. M. (2013). Fresh fruits and vegetables: An overview on applied methodologies to improve its quality and safety. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 20, 1-15.
- Ramos-Villarreal, A. Y., Aron-Maftei, N., Martín-Belloso, O. y Soliva-Fortuny, R. (2012). The role of pulsed light spectral distribution in the inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* on fresh-cut mushrooms. *Food Control*, 24, 206-213.
- Ramos-Villarreal, A. Y., Martín-Belloso, O. y Soliva-Fortuny, R. (2013). Intense light pulses: Microbial inactivation in fruits and vegetables. *CyTA-Journal of Food*, 11, 234-242.
- Reay, P. F. y Lancaster, J. E. (2001). Accumulation of anthocyanins and quercetin glycosides in 'Gala' and 'Royal Gala' apple fruit skin with UV-B-Visible irradiation: Modifying effects of fruit maturity, fruit side, and temperature. *Science Horticulturae*, 90, 57-68.
- Rico, R., Martín-Diana, A. B., Barat, J. M. y Barry-Ryan, C. (2007). Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 373-386.
- Rivera, C. S., Venturini, M. E., Oria, R. y Blanco, D. (2011). Selection of a decontamination treatment for fresh *Tuber aestivum* and *Tuber melanosporum* truffles packaged in modified atmospheres. *Food Control*, 22, 626-632.
- Rivera-Pastrana, D. M., Gardea Béjar, A. A., Martínez-Téllez, M. A., Rivera-Domínguez, M. y González-Aguilar, G. A. (2007). Postharvest biochemical effects of UV-C irradiation on fruit and vegetables. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30, 361-372.
- Robles-Sánchez, R. M., Rojas-Graü, M. A., Odrizola-Serrano, I., González-Aguilar, G. A. y Martín-Belloso, O. (2013). Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut mangoes. *LWT-Food Science and Technology*, 50, 240-246.
- Rojas-Graü, M. A., Soliva-Fortuny, R. y Martín-Belloso, O. (2009). Edible coating to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 20, 438-447.
- Sagong, H. G., Lee, S. Y., Chang, P. S., Heu, S., Ryu, S. y Choi, Y. J. (2011). Combined effect of ultrasound and organic acids to reduce *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* on organic fresh lettuce. *International Journal of Food Microbiology*, 145, 287-292.
- Saldaña, G., Álvarez, I., Condón, S. y Raso, J. (2014). Microbial aspects related to the feasibility of PEF technology for food pasteurization. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54, 1415-1426.
- Sánchez-Moreno, C., De Ancos, B., Plaza, L., Elez-Martínez, P. y Cano, M. P. (2009). Nutritional approaches and health-related properties of plant foods processed by high pressure and pulsed electric fields. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49, 552-576.
- Sánchez-Moreno, C., Plaza, L., Elez-Martínez, P., De Ancos, B., Martín-Belloso, O. y Cano, M. P. (2005). Impact of high pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice in comparison with traditional thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4403-4409.
- Santos, A. R., da Silva, A. F., Amaral, V. C. S., Ribeiro, A. B., de Abreu Filho, B. A. y Mikcha, J. M. G. (2016). Application of edible coating with starch and carvacrol in minimally processed pumpkin. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 1975-1983.
- São José, J. F. B., Andrade, N. J., Ramos, A. M., Vanetti, M. C. D., Stringheta, P. C. y Chaves, J. B. P. (2014). Decontamination by ultrasound application in fresh fruits and vegetables. *Food Control*, 45, 36-50.
- São José, J. F. B. y Vanetti, M. C. D. (2012). Effect of ultrasound and commercial sanitizers in removing natural contaminants and *Salmonella enterica* Typhimurium on cherry tomatoes. *Food Control*, 24, 95-99.
- Selma, M. V., Allende, A., López-Gálvez, F., Conesa, M. A. y Gil, M. I. (2008). Disinfection potential of ozone, ultraviolet-C and their combination in wash water for the fresh-cut vegetable industry. *Food Microbiology*, 25, 809-814.
- 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, 547-557.
- Sharma, P., Oey, I., Bremer, P. y Everett, D. W. (2014). Reduction of bacterial counts and inactivation of enzymes in bovine whole milk using pulsed electric fields. *International Dairy Journal*, 39, 146-156.

- Shayanfar, S., Chauhan, O. P., Toepfl, S. y Heinz, V.** (2014). Effect of non-thermal hurdles in extending shelf life of cut apples. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 4033-4039.
- Simoes, A. D., Tudela, J. A., Allende, A., Puschmann, R. y Gil, M. I.** (2009). Edible coating containing chitosan and moderate modified atmospheres maintain quality and enhance phytochemicals in carrot sticks. *Postharvest Biology and Technology*, 51, 364-370.
- Soliva-Fortuny, R., Vendrell-Pacheco, M., Martín-Belloso, O. y Elez-Martínez, P.** (2017). Effect of pulsed electric fields on the antioxidant potential of apples stored at different temperatures. *Postharvest Biology and Technology*, 132, 195-201.
- Surjadinata, B. B., Jacobo-Velázquez, D. A. y Cisneros-Zevallos, L.** (2017). UVA, UVB y UVC light enhances the biosynthesis of phenolic antioxidants in fresh-cut carrot through a synergistic effect with wounding. *Molecules*, 22, 1-13. Recuperado de <http://www.mdpi.com/1420-3049/22/4/668/htm>
- Tapia, M. S., Rojas-Grau, M. A., Carmona, A. y Rodríguez, F. J.** (2008). Optimization of edible coating formulations for fresh-cut pineapple. *International Food Research Journal*, 19, 279-285.
- Valencia-Chamorro, S. A., Palou, L., Del Río, M. A. y Pérez-Gago, M. B.** (2011). Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 872-900.
- Vargas, M., Pastor, C., Chiralt, A., McClements, D. J. y González-Martínez, C.** (2008). Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 496-511.
- Vega-Mercado, H., Martín-Belloso, O., Chang, F. J., Barbosa-Cánovas, G. V. y Swanson, B. G.** (1996). Inactivation of *E. coli* and *B. subtilis* suspended in pea soup using pulsed electric fields. *Journal of Food Processing and Preservation*, 20, 501-510.
- Wang, R. X., Nian, W. F., Wu, H. Y., Feng, H. Q., Zhang, K., Zhang, J., ... y Fang, J.** (2012). Atmospheric-pressure cold plasma treatment of contaminated fresh fruit and vegetable slices: Inactivation and physiochemical properties evaluation. *European Physical Journal D*, 66, 276.
- Wendakoon, S. K., Matsuo, H., Yamamoto, H. y Izumi, H.** (2010). Effects of high pressure treatment on microbiological and organoleptic quality of fresh-cut vegetables. *Acta Horticulturae*, 875, 297-302.
- Zhou, B., Feng, H. y Luo, Y.** (2009). Ultrasound enhanced sanitizer efficacy in reduction of *Escherichia coli* O157:H7 population on spinach leaves. *Journal of Food Science*, 74, 308-313.
- Zhou, C.-L., Liu, W., Zhao, J., Yuan, C., Song, Y., Chen, D., ... y Li, Q.-H.** (2014). The effect of high hydrostatic pressure on the microbiological quality and physical-chemical characteristics of Pumpkin (*Cucurbita maxima* Duch.) during refrigerated storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 21, 24-34.