

PARTE 1

Procesos de **fabricación de bebidas** **alcohólicas**

1.1. BEBIDAS ALCOHOLICAS

1.1. Bebidas alcohólicas

1.1.1. Introducción

Las bebidas alcohólicas tienen su origen en el proceso de fermentación alcohólica. Todo líquido azucarado sufre esta fermentación de manera espontánea debido a la acción de las levaduras que, en ausencia de aire, destruyen la glucosa y otros azúcares produciendo dióxido de carbono y etanol.

La vida de las levaduras en los líquidos es distinta a la de los mohos ya que, mientras estos últimos viven en la superficie, las levaduras crecen en la masa del líquido. En algunas ocasiones suben a la superficie creando una película llamada velo. La levadura del vino, por ejemplo, se encuentra sobre las vides en el período de maduración, pasa al mosto en la fase de estrujamiento y posteriormente inicia la fermentación del mosto para transformarlo en vino.

En la fermentación alcohólica participan diferentes especies de levaduras.

Las más interesantes son:

1. **sacaromicetos**

- *Saccharomyces ellipsoideus*. Es una de las levaduras más activas en la vinificación. Fermenta glucosa, sacarosa y maltosa

- *Saccharomyces apiculatus*. Tiene mucha importancia en la fermentación del vino y de la sidra. Sólo fermenta la glucosa. Deja de reproducirse cuando la concentración alcohólica de un líquido alcanza un 3-4 %. En el caso de los vinos, cuando se llega a esa concentración empieza a actuar la *S. ellipsoideus*.
- *Saccharomyces cerevisiae*. Se desarrolla en el mosto de la cerveza
- *Saccharomyces carlsbergensis*. Se desarrolla en el mosto de la cerveza. Fermenta glucosa, maltosa y sacarosa
- *Saccharomyces pastorianus*. Hay 3 variedades, una de ellas produce vinos seos de sabor áspero. Las otras actúan sobre la cerveza produciendo líquidos turbios y de sabor amargo
- *Willia anómala*. Se aisló en una levadura de cerveza. Forma velo gris en la superficie de los líquidos y produce olor a esencias y frutas. Fermenta la glucosa pero no descompone la maltosa y sacarosa

2. no sacaromicetos

- *Torula*. Forma velo en los líquidos fermentados comunicando sabores amargos y desagradables
- *Mycoderma vini* y *M. cerevisiae*. Producen también velo en la superficie de los líquidos. El primero es aerobio, transformando el alcohol en CO₂ y agua (flores del vino)

La preparación de las levaduras especiales es uno de los problemas de la industria de fermentación, ya que ciertas levaduras debidamente elegidas son las que comunican el sabor especial a las diferentes bebidas.

Dado que la mayoría de las levaduras sólo actúan sobre la glucosa mientras que, muy pocas lo hacen sobre la maltosa y la dextrina, en la obtención de alcohol a escala industrial hay que recurrir a hongos ricos en amilasas que hidrolizan el almidón y la dextrina. Algunos de estos hongos prosiguen la transformación descomponiendo los azúcares obtenidos en alcohol, como el *Aspergillus oryzae* que produce el sake. En otros casos hay que asociar hongos a levaduras.

1.1.2. Procesos químicos en la fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica se debe a una enzima soluble que producen las levaduras, zimasa (en realidad es un complejo de enzimas)

La teoría de Meyerhof (1934) explica los procesos de la fermentación; la fermentación empieza con la reacción entre los ácidos gliceroaldehidofosfórico y dioxiacetonfosfórico que producen simultáneamente ácido fosfoglicérico y ácido α -glicerofosfórico.

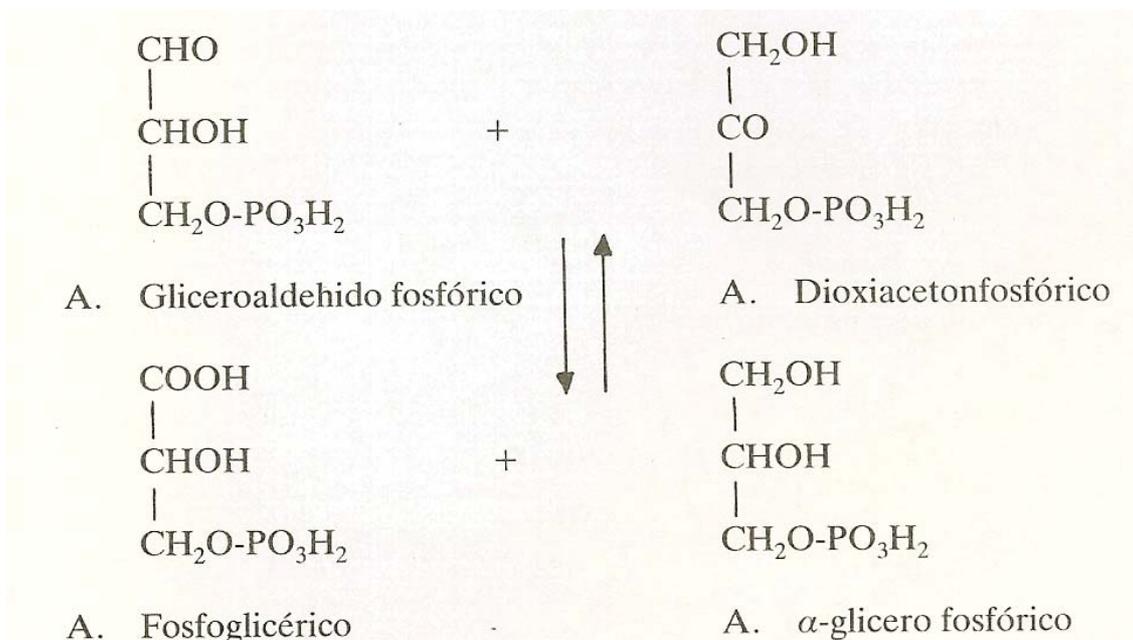


Fig.1- reacción alcohólica

Si se añade fluoruro sódico, la fermentación cesa y se pueden aislar todos los ácidos anteriores. Si el proceso continúa el a. Fosfoglicérico, por pérdida de una molécula de agua, se transforma en ácido fosfopirúvico que por hidratación da ácido pirúvico y ácido fosfórico.

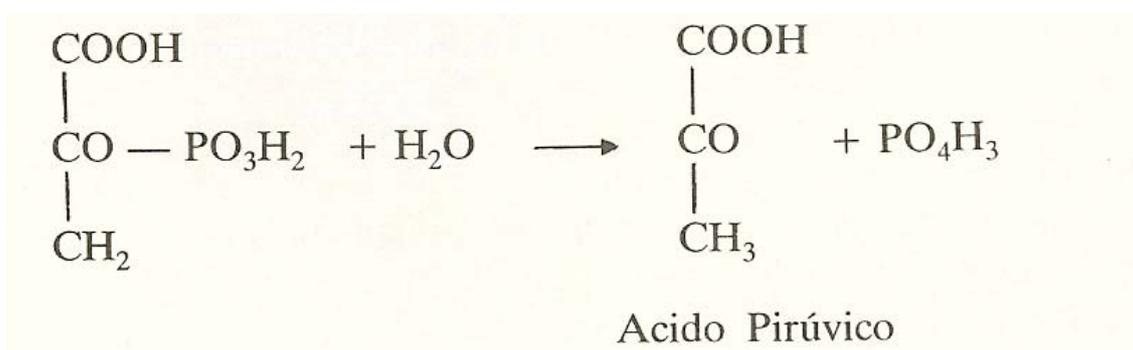


Fig.2- reacción alcohólica

El ácido pirúvico por acción de la carboxilasa se descompone en dióxido de carbono y acetaldehído que, por reducción, da etanol.

Se produce también una reacción secundaria debido a que el ácido dioxiacetonfosfórico por un proceso de oxidorreducción produce ácido α -glicerofosfórico que, a su vez, se desdobra en glicerina y ácido fosfórico.

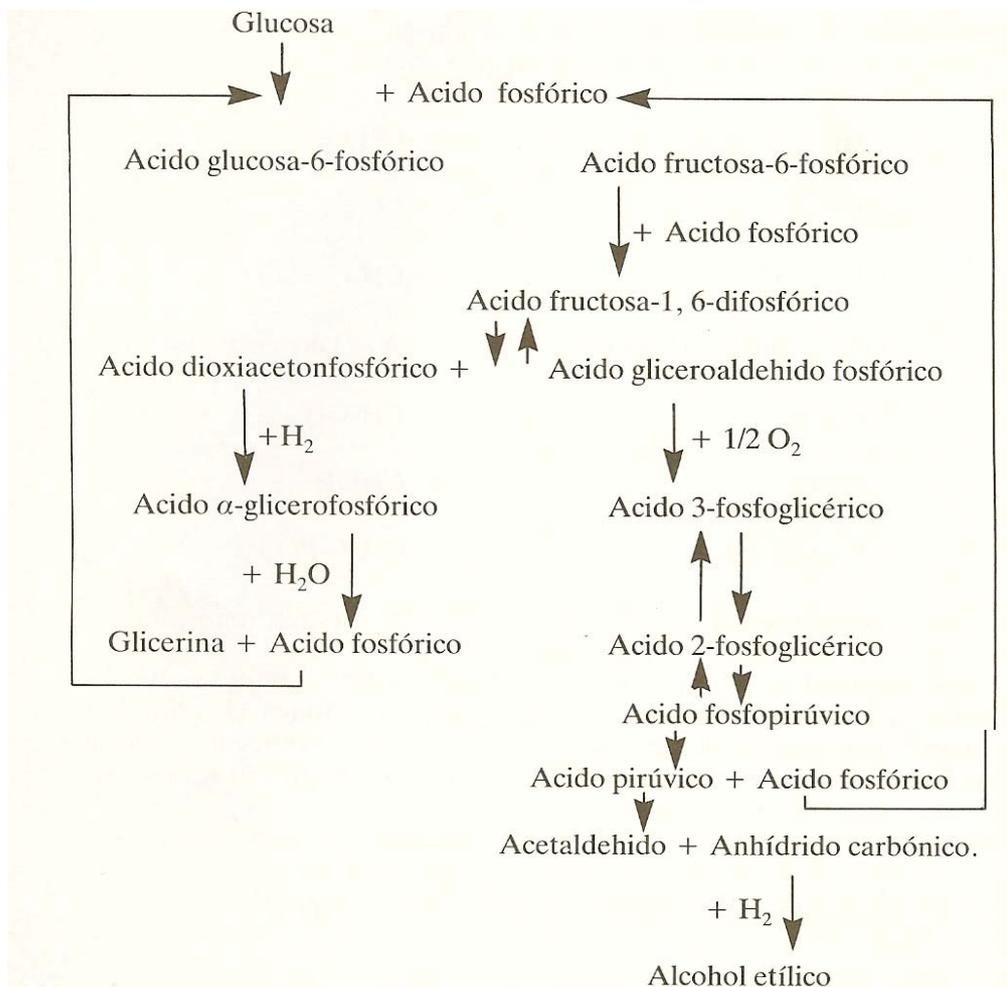


Fig.3- esquema de reacciones

Numerosas bacterias y hongos pueden interferir durante la fermentación y producir alteraciones perjudiciales o beneficiosas. La fermentación butírica, por ejemplo, produce ácido butírico a partir de ácido pirúvico y acetaldehído, ambos productos intermedios de la fermentación alcohólica.

Por la acción de la carboligasa, enzima producido por levaduras, se forman largas cadenas carbonadas a partir del acetaldehído. Este proceso tiene gran interés en la síntesis de ácidos grasos.

La fermentación alcohólica es un proceso complejo donde intervienen un gran número de enzimas producidas por diversas clases de microorganismos.

También tienen lugar una serie de descomposiciones de proteínas y otros compuestos presentes en el mosto con lo que además de los compuestos anteriores se producen:

- alcoholes superiores: propílico, hexílico, heptílico, octílico, etc
- ácidos: fórmico, acético, propiónico, láctico, succínico, cítrico, etc
- aldehídos
- esteres
- amidas
- aminoácidos
- sales orgánicas
- minerales

1.2. FABRICACIÓN DE LA CERVEZA

1.2. Fabricación de la cerveza

1.2.1. Generalidades

La cerveza la fabricaban ya en tiempos muy antiguos. Documentos escritos que datan del tiempo de los sumerios, 7000 A.C., indican que ya entonces se preparaba una bebida que puede considerarse como una forma primitiva de nuestra cerveza.

En los últimos 100 años se han sentado las bases de una tecnología cervecera, mediante el análisis científico de los procesos biológicos y químicos que tienen lugar en el curso de la elaboración de la cerveza, lo que permite un uso más racional de las materias primas. A este respecto es de destacar la importancia de los conocimientos obtenidos sobre los aspectos biológicos y bioquímicos de la fermentación y maduración de la cerveza.

La cerveza es una bebida fermentada y espumosa, en cuya fabricación se utilizan materias primas ricas en carbohidratos como malta, cebada, trigo, arroz, maíz desengrasado, almidón de trigo o de maíz, azúcar, lúpulo y agua, a las que se añaden levaduras.

La malta es cebada germinada o trigo germinado, cuyo proceso de germinación se interrumpe en el momento óptimo, de máximo contenido

enzimático, por calentamiento a 90-105° C en la caldera de fermentación o en horno de desecación. Durante la germinación de los cereales se forman en los granos importantes enzimas como amilasas, hemicelulasas, proteasas, proteasas, fosfatasas y oxidasas que tienen gran importancia para preparar un mosto que sirva de sustrato inicial para la fermentación y maduración de la cerveza.

Un proceso de gran trascendencia que ocurre durante la germinación es la solubilización de la harina del núcleo de los granos de cereales. En el núcleo de los granos de cereales el almidón se encuentra en el interior de células cuyas paredes tienen un alto contenido de hemicelulosas. En el curso de la germinación las paredes celulares son desintegradas por las hemicelulosas quedando en libertad los gránulos de almidón, que son degradados por la acción de la amilasa a dextrinas y azúcares. Los monosacáridos y oligosacáridos, así como los aminoácidos libres formados durante la germinación, son los productos precursores de los sabores y colores que se originan durante la desecación. A dichos productos se deben el típico aroma y el color tostado de la malta. Mediante el control de las temperaturas de germinación y de desecación puede obtenerse tipos de malta ricos o pobres en enzimas que se requieren para la fabricación de las diversas clases de cervezas.

1.2.2. Obtención del mosto

El proceso técnico de preparación del mosto es el siguiente:

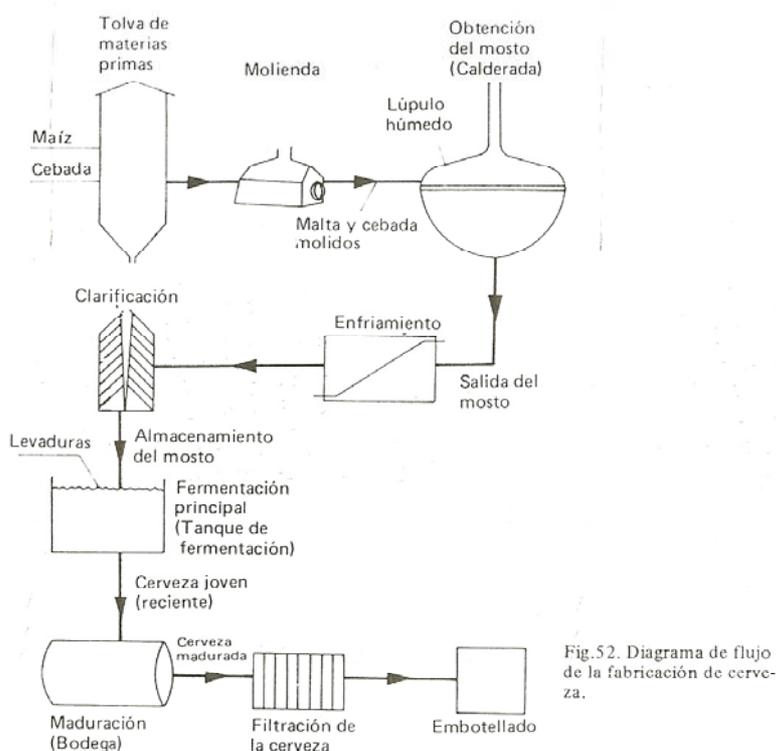


Fig.4- Diagrama de flujo de fabricación de cerveza

- Desintegración de los cereales o materias primas (molturación)
- Maceración (batido de la malta) y extracción del contenido de los granos (lixiviación)
- Separación de los materiales sólidos de la fase líquida (filtración)
- Calentamiento del mosto con el lúpulo (cocción)
- Enfriamiento del mosto y eliminación de los materiales que lo enturbian (enfriamiento y clarificación)

La malta y las materias primas cereales se molturan y maceran normalmente por separado. La malta molida suele tener un 15% de barbas y glumas, un 45% de sémola y un 15% de harina.

Durante la maceración se produce la degradación enzimática de almidón, de las proteínas y de otros compuestos y la extracción con agua de los productos resultantes. El procedimiento de maceración varía según el tipo de cerveza que se desea obtener y las materias primas utilizadas. Existen procedimientos de cocción y de infusión que presentan diferencias fundamentales.

En el procedimiento de cocción parte de la malta macerada se hierve y se mezcla seguidamente con el resto del macerado hasta que la mezcla alcance la temperatura deseada. En el procedimiento de infusión la temperatura de todo el macerado se eleva gradualmente. Por lo general la temperatura se eleva hasta 30-50° C. Cuando se utiliza una gran proporción de cebada cruda, más del 25% del total, se añaden preparados enzimáticos que a 52° C degradan los glucanos de la cebada. Los glucanos dificultan los procesos de clarificación y filtración. A estas temperaturas también actúan los enzimas proteolíticos. Después de mantener estas temperaturas durante 20-30 minutos, se calienta hasta alcanzar una temperatura de 63-64° C. A esta nueva temperatura actúa la B-amilasa que degrada el almidón a maltosas sin que apenas se produzcan dextrinas. Elevando después la temperatura de la masa a 72-75° C se consigue la temperatura óptima para la acción de la α -amilasa, enzima que reduce el almidón a dextrinas sin

producir apenas maltosa. Alargando o acortando los tiempos de calentamiento a las diferentes temperaturas se puede controlar la composición del mosto en lo que concierne a relación de azúcares fermentables por las levaduras, como glucosa, sacarosa, levulosa, maltosa y maltotriosa, respecto de las dextrinas no fermentables. Dicha relación es la que determina el grado final de fermentación.

En la siguiente fase de filtración o clarificación tiene lugar la separación de las materias solubles del extracto (mosto) de las partículas sólidas (heces). Mediante lavados sucesivos con agua a 75° se arrastran todas las materias solubles residuales de las heces que quedan así lavadas. Las heces pueden utilizarse como pienso rico en proteínas.

Al mosto se añade seguidamente lúpulo y se somete a cocción durante hora y media o dos horas.

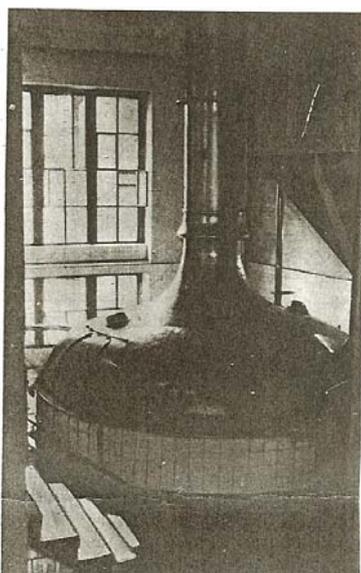


Fig.5- cuba o caldera con mosto de cerveza

La cocción solubiliza determinados componentes del lúpulo que imparten el sabor amargo de la cerveza. La cocción determina además la coagulación de las proteínas que en su mayor parte forman complejos de albúmina-materias tánicas. También se inactivan los enzimas del mosto. Finalmente el mosto se enfría a 5-8° y se somete a un proceso de clarificación.

Los complejos de albúmina-taninos, que se forman durante la cocción del mosto, producen un enturbiamiento grosero que puede eliminarse por simple decantación o por sedimentación. También durante el enfriamiento, cuando la temperatura desciende a 65-70° C, comienza a aparecer un enturbiamiento fino. Esto se debe igualmente a la formación de complejos de albúminas y taninos, pero se diferencia en su conducta y composición de los complejos que se determinan el enturbiamiento grosero. También durante la fermentación superficial de las levaduras aparece un fino enturbiamiento que puede afectar a la propagación de las levaduras y a la fermentación. Los materiales que producen la turbidez coloidal pueden separarse del mosto por sedimentación o filtración. Otro inconveniente derivado de la combinación de albúminas con los taninos es la producción de espumas y sabores desagradables, lo que hace precisa la total eliminación de los componentes que producen el enturbiamiento fino. Para asegurar una buena propagación de la levadura de cervecería durante la fermentación principal se incorpora aire estéril al mosto filtrado. El contenido en oxígeno del mosto debe ser de 8 mg/l

1.2.3. Fermentación y maduración

El mosto enfriado, filtrado y aireado tiene que ser transformado seguidamente en cerveza. Para ello se requieren otros dos procesos, la fermentación principal y la secundaria o maduración de la cerveza.

1.2.3.1. Levaduras de cervecería

Para la fermentación profunda de la cerveza se emplean cepas de levaduras de la especie *Saccharomyces carlsbergensis*. Esta levadura, utilizada desde hace un siglo en la fabricación de cerveza, fermenta bien el mosto a una temperatura de 5-10° C. La *S. carlsbergensis* fermenta la glucosa, sacarosa, maltosa, galactosa y los 3/3 de rafinosa. En el proceso tecnológico tienen importancia algunas características de la levadura como son la capacidad de fermentación de la maltotriosa, el poder fermentativo, la capacidad de floculación y la formación de productos de fermentación secundarios que afectan al sabor

1.2.3.2. Fermentación de la maltotriosa

Las levaduras que pueden fermentar las tres moléculas de glucosa existentes en el trisacárido maltotriosa pertenecen al tipo "Frohberg". Las levaduras maltotriosa negativas pertenecen al tipo "Saaz". Las levaduras del tipo Frohberg se emplean en al fabricación de las cervezas claras y oscuras

normales, mientras que las levaduras del tipo Saaz se emplean en la fabricación de cervezas de escaso contenido alcohólico.

1.2.3.3. Poder fermentativo

Una buena levadura cervecera debe formar en una hora alrededor de 230 μg de CO_2 por cada mg de HTS. Tomando esto como referencia se procede a determinar la capacidad fermentativa específica de una levadura con objeto de elegir las estirpes más convenientes.

En el cultivo continuado se calcula el rendimiento fermentativo de acuerdo con la fórmula siguiente:

$$G_{\text{xh}} = \frac{F \cdot (cs1 - cs2)}{V \cdot x \cdot 100}$$

Siendo:

- F, afluencia y salida de sustrato por hora
- cs1, extracto en gramos por 100 ml de sustrato afluente
- cs2, extracto en gramos por 100 ml de sustrato enzimático
- V, volumen del tanque fermentador
- x, concentración celular por hora

G_{xh} representa el extracto fermentado en la unidad de tiempo, por ejemplo, en 1 hora por la unidad de células, v.gr. 10^6 células.

1.2.3.4. Capacidad de floculación

Una propiedad muy importante de las levaduras es su capacidad de floculación. Durante la fase de fermentación principal las levaduras están diseminadas individualmente por el sustrato, pero hacia el final del proceso, cuando el grado de fermentación es del 55%, en la superficie de las células de la levadura se forma un complejo de manano y albúmina que hace que se adhieran las unas a las otras formando agregados o racimos de 150 a 200 células; estos agregados floculan rápidamente originando un depósito, porque el ácido carbónico desprendido no es capaz de mantenerlas en suspensión. Cuando las células pierden su individualidad y floculan cesa la fermentación tumultuosa. La capacidad de floculación de las levaduras está determinada genéticamente por tres partes de genes polímeros. Algunas cepas de levaduras forman flóculos finos y otras no floculan. Las últimas sedimentan individualmente cuando han completado la fermentación de los azúcares. Las levaduras que floculan groseramente se emplean en la fabricación de cervezas especiales que requieren un proceso de maduración de ocho semanas o más.

1.2.3.5. Formación de productos metabólicos secundarios

Las cervezas fabricadas con las mismas tecnologías pero con distintas cepas de levadura poseen diferente sabor. Por ello el sabor se ha tenido en consideración en la selección de las levaduras de cervecería. El aroma producido por las levaduras es una característica de diferenciación esencial.

El sabor de la cerveza se debe a numerosos componentes algunos de ellos aún desconocidos. Entre los productos metabólicos de las levaduras, que tienen importancia en el sabor de la cerveza, figuran alcoholes superiores como el alcohol isoamílico, el alcohol propílico, así como ésteres, ácidos, compuestos sulfurados, diacetilo y pentadiona.

1.2.3.6. Levaduras para cervezas especiales

En la fabricación de cervezas oscuras es especialmente conveniente el empleo de *Saccharomyces cerevisiae* la levadura de fermentación e superficie. Esta levadura, a diferencia de las de fermentación en profundidad, sólo fermenta 1/3 del trisacárido rafinosa y terminada la fermentación las células de levadura ascienden a la superficie de la cerveza fermentada. La fermentación con esta levadura se realiza a una temperatura de 15-25° C produciéndose más alcoholes superiores y ésteres que cuando se utilizan levaduras de fermentación profunda.

En la fabricación de cervezas para diabéticos la fermentación secundaria se realiza con *Saccharomyces diastaticus*. Además de fermentar los azúcares corrientes como la glucosa, sacarosa, maltosa y maltotriosa, esta levadura fermenta también las dextrinas más sencillas. En las cervezas fermentadas por *S. diastaticus* el contenido final de azúcares es muy bajo y por ello la bebida es adecuada para diabéticos. Últimamente se abandona el uso de esta levadura debido a que afecta negativamente al sabor. Para la fermentación del mosto de cerveza se utilizan cepas de gran poder

fermentativo, tales como *S. carlsbergensis* y durante la fermentación se añade glucoamilasa para reducir las dextrinas a azúcares fermentables por levadura.

1.2.3.7. Cultivos puros de levaduras

La levadura de cerveza se cultiva en instalaciones especiales para cultivo puro. La selección de estirpes de levadura de cervecería se lleva a cabo mediante cultivos unicelulares, que se realizan a una temperatura de 8-10° C. Para la producción de levadura se parte de cultivos de 5 a 50 ml, se siembran matraces de Pasteur (1 litro) y matraces de Carlsberg (5 l), hasta llegar a tanques de cultivo puro (200-250 litros); en la fase de máximo apogeo, es decir, durante su multiplicación, la levadura se mantiene en la fase de máximo apogeo, es decir, se mantiene en la fase de crecimiento exponencial en cultivo puro. La masa del cereal recién preparada y enriquecida con oxígeno se mezcla en la proporción de 2 o 3 partes con 1 parte de producto fermentativo.

Se distinguen dos sistemas de cultivo puro: abiertos y cerrados. En los sistemas abiertos la levadura que va a multiplicarse se pasa por los matraces de Carlsberg a recipientes abiertos de 40 y 150 litros dotados únicamente de una tapa colocada encima. Al recipiente esterilizado se le agrega el sustrato de cereal de primer brote caliente, que se deja enfriar lentamente en los depósitos. Una vez enfriada la masa de sustrato, se le añade una cantidad de levadura extraída del matraz de Carlsberg. La

adición de más sustrato fresco de cereal se lleva a cabo como ya se ha descrito. Los métodos de cultivo puro cerrados constan, por lo general, de un esterilizador del sustrato de cereal, así como de uno o varios tambores de fermentación herméticamente cerrados. Los tambores de fermentación, previamente estériles se siembran con el contenido de un matraz de Carlsberg y a continuación reciben el sustrato de cereal estéril procedente del esterilizador de dicho sustrato. Este sustrato de cereal malteado se airea en el tanque o tambor de fermentación en condiciones de esterilidad. En este sistema la multiplicación de la levadura también tiene lugar en el estadio de máximo apogeo. La cepa de levadura perdura alrededor de un año en un tambor de fermentación, extrayéndose levadura a intervalos de 14 días a 3 semanas y bombeándola a la bodega de fermentación. La levadura que queda en el tanque de fermentación vuelve a recibir sustrato de cereal estéril.

1.2.4. Fermentación principal

El procedimiento discontinuo se emplea para fabricar cerveza poco fermentada, por ejemplo con una tasa del 11,5% de sustrato malteado matriz, que se refrigera a 5-7° y se mezcla en una cuba de preparación con sustrato de cereal enriquecido con oxígeno. La cuba de preparación es un recipiente abierto de unas dimensiones tales que le permite recibir por lo menos la cantidad de sustrato malteado correspondiente a dos cocciones. Aquí se agrega a 1 Hl. de sustrato malteado 1 litro de levadura de cerveza en forma de pasta. Esta operación se denomina preparación. La

concentración de levadura en el sustrato malteado preparado es de 12-15 x 10⁶ células por ml. La adicción de la levadura debe realizarse de manera que las células se repartan de la manera más uniforme en el sustrato principal. Los hidratos de carbono y el pH ejercen sobre la levadura acción antifloculante. Tras la preparación del sustrato se forma en su superficie una capa de espuma compuesta por sustancias enturbiadoras que contienen proteínas y residuos de lúpulo. Esta espuma se retira, porque influye negativamente en la calidad de la cerveza.

Al cabo de 12-18 horas se encuentra ya la levadura en fase de crecimiento exponencial. Simultáneamente comienza la fermentación. El sustrato así preparado se bombea a una cuba de fermentación vacía. El sedimento, que queda en la cuba de preparación se compone principalmente de posos y células de levaduras incapaces de fermentar, por lo que se elimina. En el bombeo vuelve a contactar el sustrato con el oxígeno atmosférico, con lo que se estimulan la multiplicación de la levadura y la fermentación. En el curso de las primeras 24 horas se forma en la superficie del líquido una capa de espuma blanca, que recibe el nombre de “rizado”. Se compone de conglomerados de proteína y tanino, residuos del lúpulo y otras sustancias amargas que durante la fermentación flotan en la superficie, y de levaduras muertas. El color de esta superficie rizada varía entre el blanco y el castaño oscuro al final de la fermentación se alisa el “rizado” por la escasa producción de CO₂ y se forma una capa de espuma de color castaño oscuro llamada “cubierta”.

A medida que gana intensidad la fermentación, aumenta la temperatura en la cuba de fermentación. En la fermentación fría la temperatura no sobrepasa los 8,5°. En la caliente se alcanzan temperaturas de 12° o más. El calor generado en la fermentación se elimina con serpentines refrigerados o con depósitos de refrigeración soldados a las cubas. Como sustancia refrigerante se suele emplear agua potable enfriada a 1° C. La regulación de la temperatura requiere mucho cuidado, pues en la zona térmica de los 8-10° reaccionan las levaduras con gran sensibilidad ante variaciones de temperatura de sólo unas décimas de grado. La intensidad máxima de fermentación se alcanza entre los días 2° y 3°. En esta fase se transforman diariamente 1,5-2,0 Kg. de azúcar por Hl. de cerveza en alcohol y dióxido de carbono. Si se emplean levaduras fraccionadas, entre los días 5° y 6° se produce la floculación de la levadura y con ello se inicia la clarificación de la cerveza joven. Simultáneamente se forma la "cubierta". En el curso de las 24-48 horas siguientes se enfría la cerveza a 5-6° C. La cerveza con un contenido de extracto seco próximo al 3,5-4 % se bombea a tanques cerrados de depósito o a recipientes de almacenado. Con esta operación, que recibe el nombre de "trasiego", se da por concluida la fermentación principal.

En la fermentación discontinua se multiplica la levadura de 3 a 4 veces. Si se excluye o limita a un mínimo la contaminación de la levadura con organismos nocivos para la cerveza en el curso de la fermentación, la levadura se puede utilizar por lo menos de 8 a 10 veces, siempre que se empleen sustratos malteados pobres en posos. La levadura que quede en la

cuba se bombeará a un recipiente destinado a recoger estos residuos. Si la levadura se ha cargado con gran cantidad de posos, se lavará con agua fría y acto seguido se trasvasará a recipientes refrigerados para levaduras.

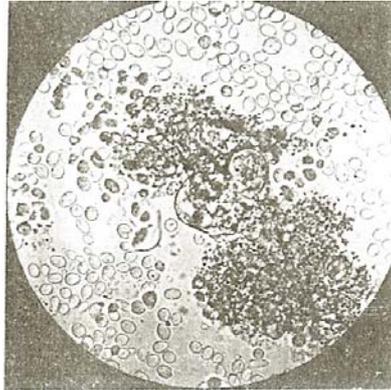


Fig.6- levadura de cerveza muy rica en materias causantes de turbidez (300 aumentos)

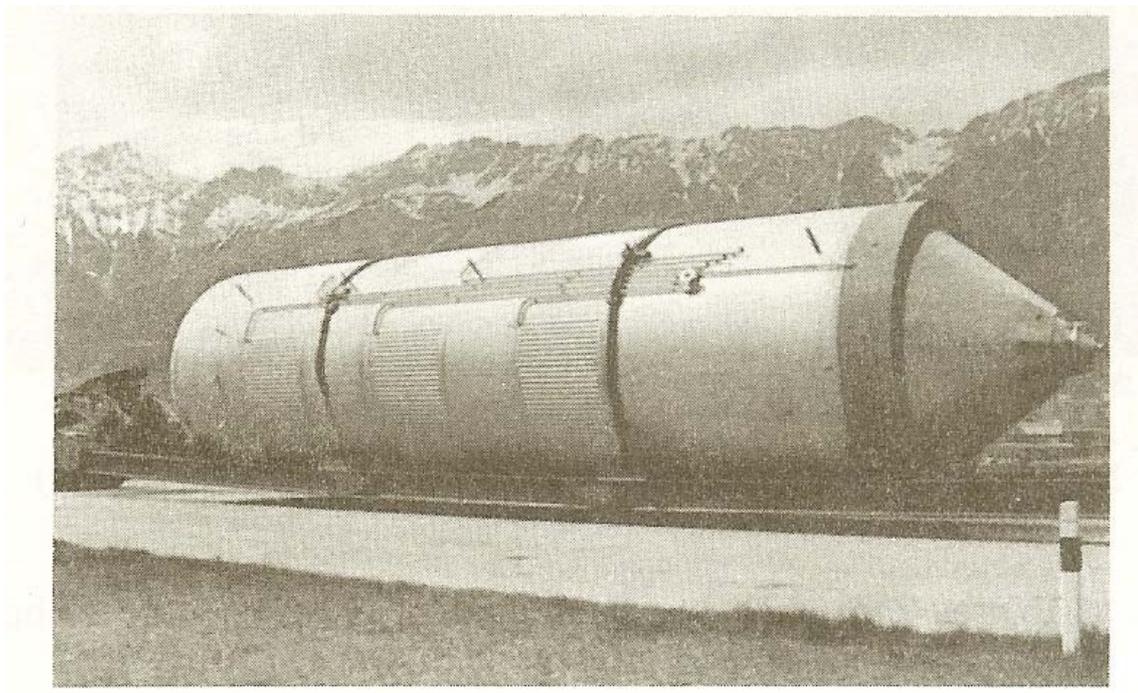


Fig.7- tanque de fermentación y guarda

En estos recipientes o tinas se guardará la levadura bajo agua a temperaturas $< 9^{\circ}\text{C}$ hasta la preparación de sustrato malteado reciente. Sin embargo, la levadura no debe mantenerse más de 5 días en estas condiciones, puesto que su fuerza fermentativa disminuye notablemente en el depósito bajo agua por pérdida de carbohidratos de reserva y de proteínas enzimáticas. Cuando, por ejemplo, la levadura deba almacenarse durante más tiempo, como consecuencia de prolongarse los intervalos entre una y otra partida de sustrato malteado, conviene prensarla y guardarla en depósito introducida en cajas entre -2 y 0°C .

1.2.5. Fermentación secundaria y maduración de la cerveza

Después de la fermentación principal la cerveza descrita anteriormente aún contiene un 1 % de material fermentable. El material fermentable residual está constituido en su mayor parte por maltotriosa y una pequeña cantidad de maltosa. La concentración de levaduras en la cerveza joven trasvasada a los depósitos o barriles de almacenamiento llega a $5-10 \times 10^6$ células por cm^3 . La concentración de ácido carbónico suele ser del 2 %. Como depósitos de almacenamiento se emplean tanques de acero o de aluminio de una capacidad variable, $10-60 \text{ m}^3$.

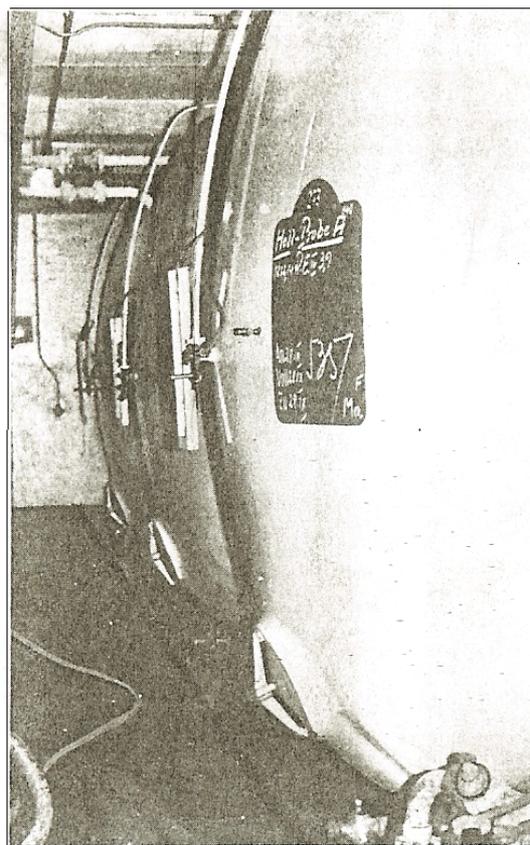


Fig.8- bodega con tanques de almacenamiento

Interiormente los depósitos de acero están esmaltados o revestidos por una resina de epóxido. Para el almacenamiento y maduración de la cerveza desde hace algunos años también se utilizan en ciertos países depósitos con una capacidad de hasta 1000 m³.

El almacenamiento y maduración de la cerveza se realiza a una presión de 1,3-1,5 atmósferas. Esta presión es necesaria para retener el CO₂ que se forma durante la fermentación secundaria.

Durante los primeros ocho días que siguen al trasvase de la cerveza la fermentación es vigorosa porque la temperatura se mantiene alta. En este

período la temperatura de la bodega de almacenamiento puede elevarse de -1°C a 2°C . El tiempo de enfriamiento de la cerveza depende de la capacidad del recipiente de almacenamiento y la fermentación secundaria prosigue durante varias semanas. Tecnológicamente el tiempo de maduración necesario depende del contenido y clase de mosto, del curso de la fermentación principal, de las cepas de levadura utilizadas y de su estado fisiológico, del tamaño del recipiente de almacenamiento y de la temperatura de maduración. A temperaturas de maduración altas el proceso se acelera pero disminuye la estabilidad coloidal de la cerveza. Una cerveza con un contenido en mosto del 11-12 % necesita un grado final de fermentación del 78-80 % que requiere un tiempo de maduración óptimo de 42 días.

Antes de embotellar la cerveza es preciso eliminar por filtración, u otro procedimiento de separación los materiales que la enturbian. Para ello se utilizan filtros de tierra de diatomeas, separadores centrífugos y filtros prensa. No obstante, como material filtrante de la cerveza aún se utiliza el algodón. En la cerveza filtrada pueden encontrarse todavía células de levaduras y materiales que producen turbidez, principalmente complejos de albúmina y materias tánicas, que pueden precipitar. Del grado de clarificación de la cerveza depende su estabilidad durante el almacenamiento. Si bien las cervezas para consumo directo e inmediato sólo se filtran, las destinadas a la exportación reciben tratamientos de estabilización previos a la filtración, al objeto de eliminar los materiales enturbiantes. De la misma forma se tratan las cervezas que se van a

almacenar embotelladas más de cuatro semanas. Después de la filtración la cerveza se envasa en botellas, barriles o latas. La cerveza filtrada es muy sensible a la acción del oxígeno debido a que éste facilita el crecimiento microbiano, el enturbiamiento coloidal y, además, afecta adversamente a su sabor.

1.2.6. Procedimientos de fermentación acelerada

La clásica técnica discontinua de cervecería requiere para la fermentación y maduración un período de tiempo de unos 50 días. Para aumentar la capacidad de producción son mejores los procedimientos de fermentación y maduración más rápidos, habiéndose desarrollado por ello procedimientos de fermentación tanto discontinuos como continuos de maduración acelerada.

La fermentación y maduración de la cerveza pueden acelerarse:

- empleando mayores concentraciones de levadura
- utilizando temperaturas de fermentación y maduración más altas
- mediante el uso del sistema de agitación
- inoculando cepas de levaduras de mayor rendimiento
- recurriendo a la fermentación bajo presión

En esta fermentación a presión se puede reducir el tiempo necesario a sólo 13 días. Consta de tres fases: propagación, fermentación a presión y maduración. El mosto enfriado y clarificado se enriquece primero en oxígeno. La propagación de levaduras se realiza a una temperatura de 8-8,5° C durante 40 horas. Durante la fase de propagación no se emplea presión. Durante la propagación la concentración de levaduras llega a 35-45 x 10⁶ ml⁻¹. A las 15-18 horas de propagación se saca el sustrato utilizado en la propagación y se introduce mosto fresco. Por cada hectolitro de mosto se añade un inóculo de ¼ de litro de papilla espesa de levaduras. El contenido en extracto seco del mosto de cerveza del depósito de propagación es del 9-10%. Este sustrato se bombea a continuación al depósito de fermentación a presión. Durante la fermentación a presión se emplea una temperatura de 9-10° C y una presión de 1,8 atmósferas hasta que termina la fermentación a los 5 días. Durante la fase de fermentación a presión apenas se propagan las levaduras pero se acelera el proceso fermentativo. El ácido carbónico producido durante la fermentación se recoge mediante un tubo colector para su empleo ulterior. Una vez fermentada la cerveza, se procede a su enfriamiento a una temperatura de 3,5-4° C y se bombea al depósito de maduración. En los depósitos de maduración la presión se reduce de 1,8 a 1,25 -1,40 atmósferas. A los 6-7 días de maduración la cerveza posee las mismas características analíticas y organolépticas que la cerveza obtenida por el procedimiento tradicional después de un tiempo de fermentación y maduración de 50 días.

En los métodos de fermentación y maduración continuos se distingue entre técnicas homocontinuas y heterocontinuas. Los procedimientos

homocontinuos se suelen llevar a cabo como técnicas de varias etapas con y sin retorno de la levadura en el primer estadio. Los recipientes de fermentación están dotados en los métodos homocontinuos de sistemas de entremezclado y bombeo circulante. En los sistemas heterocontinuos se utilizan fermentadores en forma de torre de uno o varios pisos. Estos métodos trabajan por lo regular con una concentración muy alta de células ($> 120 \times 10^6$ células por ml) frente a $60-70 \times 10^6$ células por ml en los procedimientos clásicos. Las temperaturas oscilan en las técnicas homocontinuas y heterocontinuas entre 10 y 28° C. Como consecuencia, los tiempos requeridos para la fermentación y maduración fluctúan en la esfera industrial entre 15 días y en ocasiones, menos de 24 horas. Debido a que en la técnica de trabajo continuo las levaduras tienen mayores exigencias en lo referente a rendimiento fermentativo, propiedades floculantes y estabilidad genética que las levaduras destinadas a procedimientos discontinuos, para aquellos procesos se necesitan levaduras especiales.

Como las instalaciones de fermentación y maduración de las fábricas cerveceras continuas están en funcionamiento por lo menos 6 meses, los recipientes y circuitos exigen cuidados especiales, así como los sistemas de limpieza y desinfección. En este campo se prestará particular atención a evitar la presencia de gérmenes contaminantes que posean tiempos de reproducción más cortos que los de las levaduras.

1.2.6.1. Fenómenos que acontecen durante la fermentación y maduración

Los hidratos de carbono fermentables existentes en el mosto de la cerveza que ya recibió el lúpulo se transforman en alcohol y dióxido de carbono en el curso de la fermentación principal y de la maduración subsiguiente. La cerveza del 12 % ya terminada contiene alrededor de 3,8-4,2 g de alcohol por litro y el 0,38-0,50 % de CO₂.

Sin embargo, estas sustancias no son las únicas en determinar el sabor y el buqué de la cerveza. Son sobre todo los productos secundarios producidos durante la fermentación y maduración y las restantes sustancias contenidas en forma coloidal los que prestan a una cerveza su carácter total. Entre los subproductos de la fermentación se cuentan alcoholes superiores, ésteres, diacetilo, pentandiona, compuestos azufrados y aldehídos. Se forman durante la fermentación principal. La proporción de estos productos metabólicos depende de manera decisiva del metabolismo de las levaduras.

La fase de latencia se caracteriza por la activación del metabolismo y la captación de sustancias nutritivas y estimulantes del crecimiento por las células. Experiencias realizadas con aminoácidos marcados con N-15 y C-14 han demostrado que la absorción de los aminoácidos depende más de la tasa de nitrógeno α -amínico total existente en el medio, que de la concentración de los respectivos aminoácidos. La opinión sostenida hasta ahora de que las levaduras realizan la asimilación intacta de determinados aminoácidos ya no puede sostenerse. Es evidente que las células de las levaduras disponen de

un complicado sistema de transaminasas. Así el N-15 que marcaba a un determinado aminoácido fue vuelto a encontrar en todos los aminoácidos de la levadura. La velocidad de absorción de los respectivos aminoácidos es proporcional en todos los aspectos a la concentración de aminoácidos existente en el medio. Hasta la prolina, todos los aminoácidos pueden ser asimilados por la levadura. En la síntesis de la prolina el grupo amínico lo recibe de la célula de la levadura no a través de reacciones de transaminación, sino por medio del ácido glutámico. Se ha comprobado que el ácido glutámico desempeña una función clave en el metabolismo aminoácido de las levaduras, ya que durante el crecimiento de éstas en la fermentación de la cerveza discurren a través de él las reacciones de transaminación. Así mismo resulta interesante que en la fase inicial de la fermentación, es decir en las primeras 12 horas siguientes a la preparación del mosto de la cerveza, alrededor del 20 % del carbono del ácido glutámico de los enzimas procede de la glucosa y sacarosa del mosto.

De los hidratos de carbono fermentescibles, se utilizan en primer lugar la glucosa, fructosa y sacarosa. Únicamente cuando estos azúcares se consumieron se pasa a aprovechar la maltosa y maltotriosa. Para ello las levaduras deben formar enzimas tan importantes como la α -glucosidopermeasa y la α -glucosidasa transcurre un tiempo de 15 minutos. Al contrario que en la fermentación y maduración continuas, la maltotriosa sólo fermenta en el método clásico discontinuo cuando la maltosa ha desaparecido prácticamente del medio. En cambio en los procesos continuos, de uno o

varios estadios, las levaduras aprovechan la maltotriosa ya en las primeras etapas.

En los primeros 4 días de la fermentación principal, es decir, paralelamente a la multiplicación de la levadura, se forman sobre todo los alcoholes superiores, diacetilo, pentadiona, aldehídos y compuestos azufrados. Los alcoholes superiores se originan en ocasiones por transaminación en α -cetoácidos de los aminoácidos tomados del mosto de cerveza o existentes en la masa de levadura, mediante descarboxilación y reducción subsiguiente. También se forman alcoholes superiores siguiendo una vía abreviada en la neosíntesis intracelular de los aminoácidos.

En la cerveza terminada se encuentran las siguientes concentraciones de alcoholes superiores: alcohol amílico (alcohol isoamílico y alcohol n-amílico) 50-60 mg/l; n.propanol, alrededor de 10-15 mg/l; butanol, sobre 5-15 mg/l.

En lo referente a influencia nociva que sobre el sabor ejercen los alcoholes superiores se ha establecido un valor límite de 100 mg por litro de cerveza terminada.

La concentración de alcoholes superiores, formados durante la fermentación principal, apenas se modifica durante la fase de maduración.

El diacetilo y la pentadiona ejercen una influencia esencial en el sabor de la cerveza. El valor límite señalado a la suma de ambas sustancias es de 0,20 mg/l de cerveza. Sin embargo, en una cerveza bien madurada existen por lo general menos de 0,05 mg/l. El diacetilo se genera en la fase de fermentación

principal. Entre los días 3º y 5º de instaurarse esta se evidencian hasta 100 mg/l. Al final de la fermentación principal y durante la maduración en la bodega-almacén, el diacetilo es reducido por las levaduras a acetona y butanodiol principalmente, productos que no influyen en la sapidez. La velocidad de desdoblamiento del diacetilo depende de la temperatura y de la concentración de levadura.

También la raza de la levadura ejerce cierta influencia. Las razas de levaduras que forman mucho diacetilo en el curso de la fermentación principal también desdoblan esta diacetona con mucha rapidez en la siguiente fase de maduración. En cambio, las levaduras que en la fermentación principal originan una concentración de diacetilo más baja, necesitan un plazo bastante más largo para reducir este producto metabólico.

La cantidad total de ésteres no debe exceder de 30 mg/l. Los ésteres se forman sobre todo durante la segunda fase de la fermentación principal. También en la primera fase de la maduración aumenta la tasa de ésteres. La formación de estos metabolitos depende de la raza de la levadura, de su concentración y de la temperatura. Cuando se trabaja con temperaturas elevadas y con altas concentraciones de levadura, se encuentran en la cerveza mayores tasas de ésteres.

En la constitución del aroma participan también los ácidos volátiles como el isobutílico, isovaleriánico, caprónico, caprílico y caprínico. La concentración total de estas sustancias es de 10-20 mg/l.

Durante la multiplicación de las levaduras y la fermentación principal se produce un cambio de pH. El pH del mosto, que es de 5,4-5,6 desciende en unas 24 a 48 horas hasta 4,4-4,5. El pH final de una cerveza en depósito está entre 4,1 y 4,4. Durante la maduración apenas se modifica el pH. Únicamente en los depósitos muy prolongados puede aumentar del orden de 0,1 por autólisis de las levaduras. El dióxido de carbono es fijado en la cerveza exclusivamente de forma física. Son responsables de la fijación, así como de la formación y la estabilidad de la espuma, las microbubujas de gas (núcleos gaseosos) formadas durante la fase de maduración y que tienen una envoltura constituida por diversos coloides (principalmente coloides proteicos y del lúpulo). Esta envoltura impide que en las disminuciones súbitas de presión al abrir la botella de cerveza se produzca la salida rápida del dióxido de carbono mantenido físicamente en las burbujas gaseosas. Con esto se crean las condiciones requeridas para la constitución de una espuma estable

1.2.7. Defectos de la cerveza causados por microorganismos

Existen diferentes microorganismos capaces de alterar la cerveza. Los microorganismos alteran la cerveza mediante la producción de sustancias que causan olores y sabores desagradables o que producen turbidez. Entre los microorganismos nocivos para la cerveza se encuentran levaduras elípticas capaces de fermentarla, pertenecientes al género *Saccharomyces*, *lactobacilos* y también bacterias productoras de ácido acético. Junto a estos microorganismos la cerveza puede contaminarse durante su fabricación con

levaduras, bacterias y hongos que no plantean problemas importantes porque en las condiciones anaeróbicas de la cerveza, a valores de pH comprendidos entre 4,0 y 4,5 y ante un contenido de alcohol superior al 3,0% no se desarrollan o su desarrollo es insignificante.

1.2.7.1. Levaduras contaminantes

Las levaduras que más dañan la cerveza son diversas cepas de *Saccharomyces cerevisiae* y algunas levaduras elípticas de la especie *Saccharomyces uvarum*. Cuando la limpieza de las embotelladoras es defectuosa y en las botellas de cerveza existe aire, en la superficie del líquido pueden encontrarse levaduras formadoras de velos como *Pichia membranaefaciens*, *Pichia farinosa*, *Hansenula anomala*, *Candida utilis* y otras especies. Estas levaduras y los hongos no se propagan durante el proceso de fabricación de la cerveza debido a las condiciones anaeróbicas reinantes.

Saccharomyces pastorianus puede contaminar la cerveza formando células en maza, elípticas o redondeadas que producen olores y sabores desagradables. Esta especie fermenta bien la glucosa, maltosa y sacarosa y 2/3 de la rafinosa. No fermenta la lactosa ni la galactosa. La levadura más peligrosa para la cerveza es *S. validus*, capaz de fermentar 3/3 de la rafinosa y cuyas células también presentan forma elíptica. *S. validus* se ha identificado como *S. uvarum*, levadura nociva que no debe confundirse con la levadura de cultivo *S. uvarum*, o con la levadura de cerveza *S. carlsbergensis*, conocida también como *S. uvarum*.

La contaminación con levaduras salvajes se debe en la mayoría de los casos al equipo y conducciones, en mal estado de limpieza, con los que contacta el mosto de cerveza. Las levaduras salvajes se adaptan con facilidad a las condiciones reinantes en las bodegas de fermentación. Cuando la contaminación ocurre precozmente las levaduras contaminantes no se propagan durante la fermentación principal ya que su crecimiento resulta inhibido por las levaduras de cervecería inoculadas. Puesto que la mayor parte de las levaduras perjudiciales que contaminan la cerveza tienen la propiedad de flocular fácilmente, al inóculo de levaduras suele añadirse una pequeña cantidad de estas levaduras. Muchas de las levaduras contaminantes son trasegadas con la cerveza al depósito de almacenamiento. Puesto que la levadura que se inocula en la cuba de fermentación suele reutilizarse, el inóculo se enriquece progresivamente en levaduras nocivas hasta el punto de poder comprobarse su presencia por un simple control microscópico.

La mayor parte de las levaduras contaminantes se desarrollan con facilidad en la bodega de almacenamiento. Las cervezas que corren más riesgo son las que se almacenan más de 4 semanas. Durante la primera fase de almacenamiento la cerveza clarifica y madura. A los 10-14 días se incrementa de nuevo la turbidez debido a la presencia de *S. pastorianus*, que además imparte a la cerveza un olor y sabor desagradable. Cuando esto ocurre todos los aparatos, recipientes y conducciones que hayan tenido contacto con la cerveza contaminada deberán limpiarse cuidadosamente y desinfectarse. También deberán desinfectarse los utensilios de limpieza. Cuando se instaura una infección de levaduras es de esperar que la conservabilidad de las

cervezas almacenadas se reduzca de 2 a 3 días si no se toman medidas adecuadas. Parecidos problemas causan las contaminaciones con las levaduras elípticas *S. cerevisiae* y *S. uvarum*.

1.2.7.2. Defectos de la cerveza causados por bacterias

Los lactobacilos son unos contaminantes peligrosos para la cerveza. Al igual que las levaduras, los lactobacilos contaminan el inóculo y las aguas de limpieza. También son fuentes de contaminación los vestidos, zapatos y botas del personal.

Así mismo, juegan un papel importante en la alteración de la cerveza distintas especies de cocos pertenecientes a los géneros *Micrococcus* y *Sarcina*. Las especies más peligrosas son: *Micrococcus cerevisiae*, *M. luterus*, *M. freudenreichii*, *M. flavus*, *M. candidus*, *M. conglomeratus*, *M. varians*, *M. pyogenes var. Albus*, *M. liquefaciens*, *M. pituitosus* y *M. acerbus*. En muchas cervecerías *M. cerevisiae* es la especie causante de defectos de la cerveza. Como otros muchos cocos incrementa el contenido en diacetilo de la cerveza, que puede alcanzar una concentración de 2 mg por litro de cerveza. Cuando el contenido en dicetonas de la cerveza excede de 0,2 mg por litro aparece un olor desagradable y sabor a miel. Los micrococos que forman tétradas y sarcinas son muy perjudiciales para la cerveza. Esto se debe a que los cocos se adaptan con facilidad a las condiciones anaeróbicas de la cerveza y causan turbidez y modificaciones del sabor.

Los lactobacilos también producen turbidez y ácidos. Las especies más peligrosas son *Lactobacillus plantarum*, *Lb brevis*, *Lb pastorianus* y *Lb buchneri*.

La mayoría de los lactobacilos, que tienen forma de bastoncito, son microarófilos y abundan en las conducciones de la cerveza, bombas, filtros y otros aparatos. Durante la fermentación principal sólo aparecen en casos de contaminación masiva. Cuando la cerveza se filtra y pierde la protección natural que suponen las levaduras consumidoras de O₂ los llamados “bastoncitos de la cerveza” se desarrollan muy rápidamente. En la cerveza encuentran entonces buenas condiciones para el crecimiento, ya que utilizan los carbohidratos residuales como fuente de carbono y los aminoácidos como fuente de nitrógeno.

En los mostos de cervecería preparados en frío siempre aparecen las llamadas termobacterias. Estos microorganismos pertenecen a las Enterobacteriaceas, géneros *Escherichia* y *Acetobacter*.

Las termobacterias tienen forma de bastoncitos cortos Gram negativos de 1,0 a 3,0 µm de longitud, que se presentan aislados individualmente o en parejas y que tienen una gran movilidad durante la fase de crecimiento. Estos microorganismos se propagan con rápidamente en el mosto de cerveza frío y enriquecido en oxígeno, pero desaparecen durante la fermentación al propagarse las levaduras. Sin embargo, cuando el mosto se inocula con levaduras débilmente fermentativas, que requieren un largo período de

fermentación debido a que consumen vitaminas y aminoácidos importantes para el crecimiento de las levaduras. Las termobacterias imparten a la cerveza un olor persistente a apio.

También puede encontrarse en la cerveza *Escherichia coli* cuando la limpieza y la desinfección son deficientes. Este germen puede llegar a la cerveza de diversos modos, entre ellos con el inóculo de levaduras. También el agua de limpieza ha sido con frecuencia una fuente de contaminación. *E coli* no se multiplica en la cerveza porque el bajo pH de la misma y su elevado contenido en alcohol son desfavorables a su crecimiento, pero, sin embargo, puede conservar su viabilidad durante dos o tres semanas.

En el proceso tecnológico de fabricación de cerveza el principal peligro de infección se encuentra en el mosto frío. Los gérmenes contaminantes que resisten durante el enfriamiento y clarificación del mosto a la fermentación principal contaminan a las levaduras que se utilizan como inóculo en fermentaciones sucesivas, propagándose así la contaminación. Además, la cerveza, una vez filtrada, es susceptible a la contaminación por múltiples microorganismos ya que el oxígeno que se incorpora a la misma durante la filtración y el trasiego no es consumido por las levaduras.

En la cervecería se requiere un constante control microbiológico para descubrir las fuentes de contaminación y un programa adecuado de limpieza y desinfección al objeto de asegurar la estabilidad biológica de la cerveza.

1.3. FABRICACIÓN DEL VINO

1.3. Fabricación del vino

1.3.1. Generalidades

Al igual que la cerveza, el vino se fabricaba ya en las culturas de los pueblos primitivos. El cultivo de la vid debió iniciarse a partir de vides silvestres del Asia Occidental, al noroeste de la India y tierras limítrofes.

El vino se obtenía no sólo del zumo de uvas, sino también de otras frutas, miel y jugos de plantas, como el arce y el ágave. En muchos escritos se hace referencia al cultivo de la vid y a la elaboración de vino por los egipcios en el 3000 a.C.

1.3.2. Tecnología de la fabricación del vino

1.3.2.1. Obtención del mosto

Las fases de la obtención del mosto son la vendimia, la extracción del mosto azucarado de las uvas y la fermentación principal.

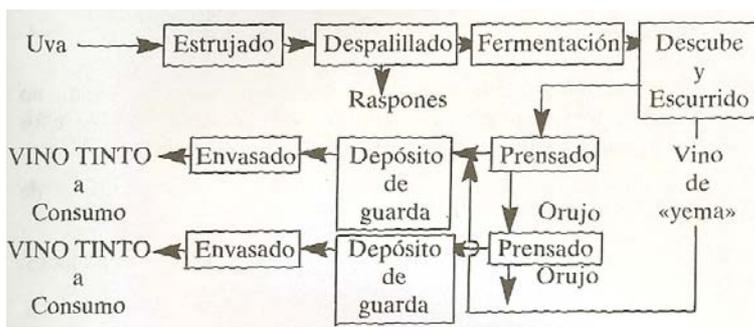


Fig.9- esquema de proceso de elaboración de vino tinto

La vendimia se inicia cuando las uvas están completamente maduras. Se recogen las uvas sanas separadamente de las que presenten podredumbre noble que luego se harán fermentar independientemente.

Una elevada tasa de azúcar y una óptima proporción de ácidos en las uvas constituyen, en unión del buqué la base de los vinos. Al completarse la maduración se ha formado sobre los granos de uva una microflora en la que predominan las levaduras. Para la elaboración de vinos de mesa se separarán los granos sanos de los podridos.

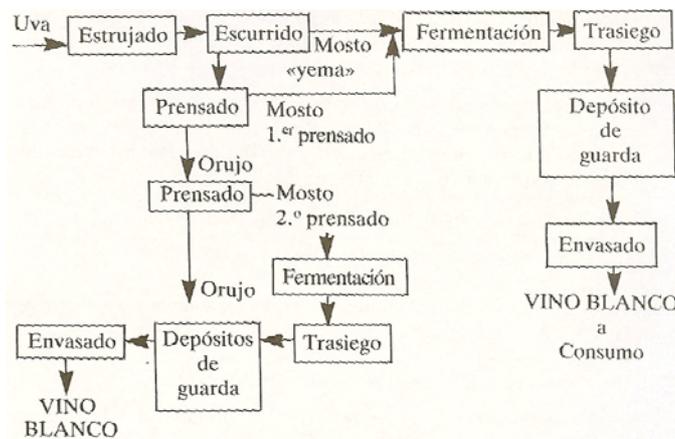


Fig.10- proceso de obtención del vino blanco

Las uvas blancas se machacan en una trituradora al efecto inmediatamente después de la recolección. Mediante una prensa de uvas se extrae de la masa de éstas el jugo de las uvas o mosto. La presión a que se trabaja en dichas prensas no debe ser superior a 12-15 kp/cm²; con ello se impide que las sustancias sápidas indeseables, por lo común taninos, procedentes de tallos y hojas, acompañen al mosto.

Las uvas rojas deben separarse del tallo y pedúnculos con un aparato adecuado antes de ser machacadas. Las uvas deben dejarse reposar antes del estrujado para permitir la disolución del pigmento rojo. Además de persistir tallos y pedúnculos en la masa de uvas rojas, al fermentar pasarían al vino taninos de sabor amargo.

Debido a condiciones ambientales desfavorables, muchas veces las uvas recolectadas están dañadas. También debe incluirse como tales las uvas "tocadas". Entonces es necesario purificar el mosto con separadores o mediante autoclarificación en forma de sedimentación. En la autoclarificación se agrega piro sulfito potásico para retrasar la fermentación. Si se espera una fuerte contaminación del vino con organismos nocivos, es necesario esterilizar el mosto. En este caso, se adiciona a continuación al mosto levadura en cultivo puro.

1.3.2.2. Fermentación

El mosto obtenido del prensado lleva a recipientes de fermentación (toneles, tanques o tinas) para que se inicie en ellos este proceso. Por lo regular se utilizan recipientes cerrados, con objeto de evitar el contacto con el oxígeno atmosférico. Las levaduras que llegan al mosto procedentes de las uvas son las que inician la fermentación. Inmediatamente después de estrujadas las uvas durante el prensado y a medida que se van enriqueciendo con oxígeno las masas de uvas y el mosto comienza la multiplicación de las levaduras. Junto con las levaduras propias del vino se encuentran en las uvas otras especies de levaduras, como la *Kloeckera apiculata* diversas especies de los géneros *Candida*, *Pichia*, *Torulopsis* y otras. Estas levaduras se multiplican en la fase inicial de la fermentación por lo regular con mayor rapidez que las levaduras vínicas, por lo que al principio de la fermentación propiamente dicha existe en el mosto gran cantidad de estas levaduras.

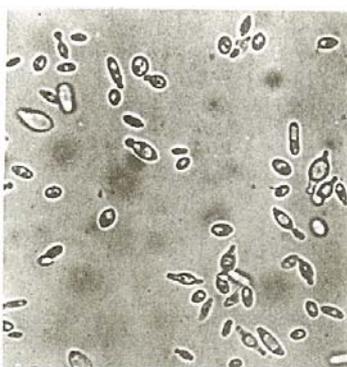


Fig.11- *Kloeckera apiculata* (700 aumentos)

Debido a la abundante formación de alcohol por las levaduras vínicas y a la falta de oxígeno, las especies de levaduras aerobias van deteniendo su

desarrollo, muriendo gran parte de ellas. Sin embargo, como al multiplicarse abundantemente en el mosto las levaduras no vínicas confieren al vino olor y sabor extraños, al productor le interesa que se produzca una rápida fermentación a cargo de las levaduras del vino. Por esta razón en muchos establecimientos se agregan al mosto levaduras en cultivo puro, constituidas por razas con características fermentativas y de sapidez comprobadamente buenas. Estas levaduras en cultivo puro se aíslan con frecuencia de la flora de levaduras que poseen las uvas de las diversas comarcas vinateras.

La esterilización del mosto antes de iniciarse la fermentación sólo se lleva a cabo en casos excepcionales, cuando el mosto se contaminó mucho con microorganismos ajenos al vino aportados por uvas dañadas y por ello cabe esperar trastornos en la fermentación o defectos de sabor. Con la esterilización no sólo mueren los organismos indeseables, sino también las levaduras vínicas y, sobre todo, las bacterias necesarias para el desdoblamiento de los ácidos. La levadura vínica puede reemplazarse fácilmente agregando levaduras en cultivo puro, los restantes microorganismos, responsables también de las características posteriores y del buqué del vino, no pueden añadirse.

Cuando se trabaja en condiciones clásicas, la fermentación principal se inicia a una temperatura de 15 a 18° C. En la fase tumultuosa de la fermentación, la temperatura puede superar los 20° C si el proceso fermentativo no se regula mediante refrigeración.

En las bodegas antiguas se realiza la fermentación en toneles provistos de cierres al efecto. Estas bodegas, con frecuencia excavadas en la roca, se caracterizan por una buena constancia térmica y uniforme humedad ambiental. En tales bodegas no existen refrigeradores de locales ni de recipientes. En los establecimientos modernos se lleva a cabo la fermentación en tanques cerrados refrigerables. El grado de fermentación se puede regular agregando piro-sulfito potásico. El azufre no sólo inhibe la proliferación de las bacterias, sino también el rendimiento fermentativo de las levaduras. Por la razón, de acuerdo con la cantidad de azufre se produce un retraso en la fermentación y con ello la persistencia de un dulzor residual en el vino. El mismo efecto se presenta cuando la fermentación se lleva a cabo a presión de hasta 7 atm y con una temperatura de 15-20° C.

Para la obtención de vino tinto es necesario fermentar especies de uvas rojas, con objeto de que los pigmentos de ese color presentes en las envolturas de las uvas (hollejos) sean extraídos por el alcohol y los ácidos formados. De aquí que la fermentación discurra mejor en recipientes de fondos perforados, que mantienen los componentes de la masa de uvas por debajo de la superficie líquida, para evitar una intensa oxidación del pigmento rojo a cargo del aire. La temperatura de fermentación está entre 20 y 25° C.

En las bodegas modernas la fermentación tiene lugar a temperatura constante y con eliminación continua del calor generado en la fermentación por medio de refrigerantes líquidos o enfriando por evaporación directa. Una fermentación uniforme y controlada reduce las mermas de alcohol y buqué. Además retrasa

la autólisis de las levaduras. Por el contrario, en una fermentación fría, 10-12° C, se inhibe el crecimiento bacteriano. Con ello surge el peligro de un retraso del desdoblamiento ácido en la fermentación de los mostos ricos en ácidos. En este caso es recomendable una fermentación caliente.

1.3.2.3. Formación y depósito del vino

Concluida la fermentación, se realiza el primer trasiego del vino, es decir, éste se separa de los posos de las levaduras. Esta medida es necesaria porque a la temperatura de fermentación relativamente alta de 15-25° C, las levaduras, terminada ya la fermentación, se autolisan con facilidad. El momento del primer trasiego se rige por la tasa de alcohol alcanzada, el desdoblamiento del ácido y el grado de transparencia conseguido. Los vinos de baja acidez se separan del sedimento de levadura ya entre principios de noviembre e inicios de diciembre, cuando se practica la fermentación caliente. En los vinos ácidos se realiza el primer trasiego sólo un mes más tarde, cuando se alcanzó la deseada acidez. En muchos vinos, especialmente en aquellos que se airearon durante el primer trasiego, es preciso hacer un segundo trasiego al cabo de 1-2 meses para eliminar del vino las sustancias enturbiadoras formadas. Este segundo trasiego se realiza frecuentemente en combinación con una filtración o separación del vino. Una vez concluida la fermentación principal los recipientes que vayan a contener el vino (toneles o tanques) se llenan casi hasta el doble, con objeto de limitar al mínimo la oxidación del vino.

Las diversas sustancias que provocan enturbiamiento durante el depósito se transforman en sedimento insoluble agregando productos clarificantes. Por último, estos sedimentos se separan del vino mediante filtración.

El empleo de ferrocianuro potásico permite eliminar las sales metálicas presentes en el vino. La incorporación de este producto químico transforma el hierro, cobre y zinc en sales difícilmente solubles. Si existe hierro, se origina el azul Berlín, que precipita como sedimento azulado. Para eliminar sustancias proteicas causantes de enturbiamiento sirven la gelatina, tanino, agar, cola de pescado, bentonita y también preparados enzimáticos de acción proteolítica.

En el curso del depósito tiene lugar la formación propiamente dicha del vino, caracterizada por un cambio en las condiciones de acidez y por el acabado del sabor y del buqué. El vino madurado es filtrado varias veces, practicándose con frecuencia un tratamiento de calentamiento-enfriamiento para que se precipiten proteínas termolábiles. A tal fin se calienta el vino en un intercambiador de calor a 70-90° C, se mantiene durante 30 o 40 segundos a esta temperatura y acto seguido se refrigera a -4° C. La ventaja de esta técnica estriba en que, además de las proteínas perjudiciales, precipita el tártaro y mueren los microorganismos.

Practicada a continuación la filtración por capas, se procede al llenado.

1.3.3. Microflora del vino

La composición de la microflora de los vinos depende ante todo de la que poseen inicialmente las uvas. Sobre la superficie de las uvas, en particular de las dañadas y podridas, existen levaduras vínicas, esenciales en la fermentación, junto a otras levaduras, bacterias y hongos. El hábitat natural de estos microorganismos es el suelo del viñedo, pero llegan a la planta y a las uvas con el polvo, el viento y la lluvia. Los aparatos, conducciones y recipientes que tienen contacto con el vino también pueden albergar microorganismos que contaminan el mosto y se propagan en él rápidamente cuando las condiciones de crecimiento le son favorables. La flora de las bodegas al estar adaptada a las condiciones imperantes en la misma determina una selección favorable.

Al igual que las levaduras de la cerveza, las del vino deben reunir unas características tecnológicas convenientes:

- elevada capacidad de fermentación a temperaturas altas o bajas (levaduras de fermentación en frío)
- alta tolerancia al alcohol
- facilidad de manipulación y utilización
- compatibilidad con los sulfitos
- osmofilia

A partir de muestras de suelos de los viñedos y de granos de uvas, así como de diversas bodegas, se han aislado levaduras que con el transcurso del

tiempo, por cruzamientos y mediante reproducción natural, han sufrido un proceso de selección. Algunas estirpes de levaduras se adaptaron a circunstancias específicas con lo que constituyeron razas especiales. Las levaduras seleccionadas de la microflora de los viñedos toman su nombre de la región en que se cultiva la vid. Sin embargo, estas levaduras ejercen escasa influencia en el sabor y buqué típicos del vino; el buqué hay que atribuirlo sobre todo al tipo de vid y a las condiciones específicas del suelo y entorno de la zona vinícola. Así se explica el que cuando se hacen fermentar mostos de frutas y bayas con tales levaduras vínicas no se consigan vinos con el buqué y sabor de las regiones vinícolas de donde proceden las levaduras.

Las levaduras del vino son cepas de *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*. La mayoría tienen forma elíptica u oval alargada, siendo la forma de la mayor parte de las células jóvenes redondeada u oval.

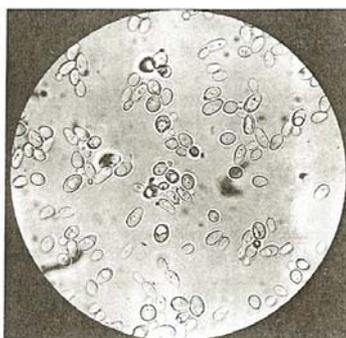


Fig.12- *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* (a 300 aumentos)

Forman de dos a cuatro esporas redondas o ligeramente ovals y fermentan la glucosa, sacarosa, maltosa y 1/3 de la rafinosa pero no la lactosa.

Su temperatura óptima de propagación se encuentra entre 23 y 25° C, pero la temperatura óptima de fermentación es de 25 a 28° C. Muchas bodegas emplean un proceso de fermentación en frío utilizando cepas de levaduras seleccionadas en cultivo puro, que a temperaturas comprendidas entre 4 y 8° C producen un rendimiento en alcohol igual al que producen las cepas espontáneas a 25-28° C. El cultivo puro de levaduras se propaga primero en mosto estéril de uva y seguidamente se añade al mosto prensado sin pasteurizar ni esterilizar. La adición de las levaduras se realizan cuando éstas se encuentran en fase de crecimiento logarítmico, momento en que su estado fisiológico es óptimo. De esta manera su crecimiento predomina sin dificultades sobre el de la flora natural de levaduras y otros microorganismos del mosto, pudiendo alcanzar el vino al grado de acidez adecuado e inhibirse la actividad de los microorganismos indeseables y de las levaduras que afectan adversamente al sabor y al buqué.

En la obtención de vinos a partir de uvas secas seleccionadas se requiere la utilización de levaduras osmófilas, capaces de fermentar mostos con un contenido en azúcar del 30% y pertenecen al género *Saccharomyces*.

Las diferentes especies de levadura encontradas hasta ahora en distintos mostos son *S. uvarum*, *S. bayanus* (= *S. oviformes*), *S. globosus* y *S. chodati* (= *S. italicus*). Las llamadas levaduras apiculadas son muy abundantes en el mosto prensado, en el que pueden constituir hasta el 50% de la flora total de levaduras del vino determinantes de la fermentación. Cuando comienza la

fermentación se produce una transición con predominio de las levaduras del vino sobre las levaduras apiculadas.

Experimentalmente se ha comprobado que la fermentación del vino es mejor en presencia de una pequeña fracción de levaduras apiculadas que acompañe a las levaduras del vino, que en el caso de un cultivo puro de las últimas. En cambio, si al comienzo de la fermentación hay un gran predominio de levaduras apiculadas, pueden inhibirse las del vino dificultándose la fermentación y originándose un buqué desagradable.

1.3.4. Enfermedades del vino

En el vino pueden presentarse defectos y enfermedades a consecuencia de tratamientos inadecuados, limpieza defectuosa de los recipientes de almacenamiento, trasiego y otras causas.

Los defectos son producidos por cambios químicos que afectan desfavorablemente al sabor, al aroma o al aspecto en general. Entre ellos figuran la turbidez, causada por iones metálicos, albúminas, etc... y las alteraciones del sabor y olor imputables a levaduras, fenol e iones metálicos. Las enfermedades del vino son consecuencia de la actividad microbiana. Se deben a los microorganismos que contaminan el vino durante su fabricación y que durante el almacenamiento encuentran condiciones favorables para su crecimiento y multiplicación. Pueden dar origen a turbidez y modificar el olor y

sabor del vino. Estas enfermedades son causadas tanto por bacterias, como por hongos y levaduras.

Como causantes de enfermedades del vino se encuentran en primer lugar las bacterias productoras de ácido acético. La conversión en vinagre o avinagramiento del vino se presenta fundamentalmente en los vinos pobres en alcohol y en ácidos. Los vinos ricos en alcohol, vinos fuertes, densos o pesados, son por el contrario bastante estables frente a estos microorganismos. Los representantes más importantes de este grupo son *Acetobacter orleanense*, *A. ascendens* y *A. xilinum*. La formación de ácido acético se debe a la oxidación de alcohol. Los vinos no se alteran cuando su contenido en ácidos volátiles es mayor de 1,2 gramos por litro en los blancos y de 1,6 gramos por litro en los tintos. Las bacterias acéticas son aerobias obligadas y al necesitar con carácter esencial el oxígeno su acción puede evitarse almacenando el vino en condiciones anaeróbicas y a baja temperatura.

Otro grupo de bacterias productoras de enfermedades del vino es el de las bacterias acidolácticas que normalmente constituye una flora deseable por producir ácido láctico. Entre las bacterias acidolácticas indeseables se encuentra *Lactobacillus manniopoeum*. También el *Lb. plantarum* figura entre los microorganismos nocivos por degradar los ácidos málico y tartárico.

Los vinos pobres en ácidos y en alcohol almacenados durante largos períodos de tiempo a temperaturas elevadas también suelen ser atacados por

levaduras. Los vinos especiales con un elevado contenido de azúcar residual son los más susceptibles a enfermedades causadas por levaduras, debido a la formación de ácido láctico y otros productos metabólicos secundarios que comunican al vino olores y sabores desagradables. Entre dichos productos figuran principalmente el diacetilo, la acetoina, alcoholes superiores, éster etílico del ácido acético y otras sustancias aún no identificadas.

La enfermedad mucilaginosa del vino es muy común. A la formación de mucílago que determina la conducta viscosa del vino contribuye una población compleja y mixta constituida por bacterias acidolácticas, hongos como *Aureobasidium pullulans* y levaduras. Cuando el vino que está afectado por esta enfermedad se vierte en un vaso forma hilos o filamentos. Si la alteración está muy avanzada el vino se convierte en un líquido denso de mal sabor.

Además de las bacterias, las levaduras también pueden alterar el vino. Entre las levaduras alterantes se encuentran las que forman velos, entre ellas muchas cepas de *Saccharomyces* muy resistentes al alcohol. Las levaduras que forman velos en el vino pertenecen a diferentes géneros y especies, siendo la más conocida la *Pichia membranaefaciens* capaz de metabolizar el alcohol, ácido acético y ácido succínico y, en consecuencia, de determinar la pérdida de buqué de los vinos. Los vinos atacados por las levaduras formadoras de velos se vuelven sosos e insípidos debido a ausencia de ácidos. El hecho de que las levaduras formen velos indica que necesitan oxígeno. Los vinos más susceptibles a la alteración son los que poseen un contenido en alcohol inferior a 12%. Mediante investigaciones microscópicas

se ha comprobado que junto a las levaduras que forman velo se encuentran bacterias productoras de vinagre. En vinos avinagrados por la producción de ácido acético se observa con frecuencia la formación de velos muy manifiestos de levaduras. Si la contaminación no es grande el vino puede tratarse con azufre o filtrarse, pero si el vino está avinagrado por el ácido acético debe destinarse a su transformación en vinagre.

En el vino que ha sido trasegado y embotellado las levaduras pueden producir turbidez y posos en lugar de formar velos. Esta alteración no sólo se produce en los vinos dulces sino también en los secos y ricos en alcohol. Las investigaciones realizadas han demostrado que la alteración se produce en la mayoría de los casos por cepas de levaduras típicas del vino muy resistentes al alcohol. Las cepas de *Saccharomyces cerevisiae* metabolizan el alcohol del vino. El oxígeno necesario para la propagación de estas levaduras lo que adquiere el vino al ser trasegado, filtrado y embotellado.

Un medio eficaz de impedir tales alteraciones consiste en la pasteurización y embotellamiento en caliente en botellas limpias y exentas de gérmenes. También viene dando buenos resultados la adición de sorbato potásico.

1.4. FABRICACIÓN DEL CAVA

1.4. Fabricación del cava

1.4.1. Introducción

El cava es un vino cuyo proceso de elaboración difiere de otros tipos de vinos. El proceso de elaboración se realiza siguiendo el método tradicional "champenoise", que se fundamenta en que tiene lugar una segunda fermentación en botella a partir de un vino al que se le ha añadido azúcar y levaduras. Este método originario de la región de Champagne, es el único que la legislación vigente autoriza para elaborar espumosos acogidos a la Denominación de Origen (D.O.) Champagne y los "Cremants". La conservación en botellas, hasta la eliminación de las lías, no debe ser inferior a nueve meses.

1.4.2. Preparación del vino base

1.4.2.1. Vendimia y prensado

Las variedades viníferas autorizadas para el cava son: macabeo, xarel.lo, parellada, subirat y chardonnais para la uva blanca y garnacha y monastrell para la uva tinta.

El rendimiento máximo autorizado es de 120 Qm/ha para la uva blanca y de 80 Qm/ha para la uva tinta.

La uva se vendimia cuando ha alcanzado la madurez óptima y se transporta en cajas con el fin de no romper los granos, ya que la rotura de la piel puede producir fermentaciones anticipadas u oxidaciones de los polifenoles.

La uva, una vez en la bodega, se pasa directamente a la prensa sin ser estrujada. Antes el estrujado se hacía por medio de prensas hidráulicas de jaula vertical, pero actualmente se utilizan prensas horizontales de platos móviles o prensas neumáticas. El mosto que se destina para espumosos es el procedente de las tres primeras prensadas que representa el 50% en cuanto a rendimiento.

El mosto obtenido se sulfita (5-10 g/hl) y se deja en reposo para el desfangado estático. Actualmente se ha intentado utilizar las centrifugas para sustituir el desfangado estático, pero empobrece el mosto en sustancias nutritivas y elimina una fracción importante de levaduras.

1.4.2.2. Fermentación del vino base

Al mosto obtenido se le hacen las correcciones si fueran necesarias y se añaden levaduras seleccionadas; se fermenta entre 15 y 18 °C; es conveniente que el vino quede seco, sin restos de azúcares ya que de lo contrario resulta difícil su clarificación.

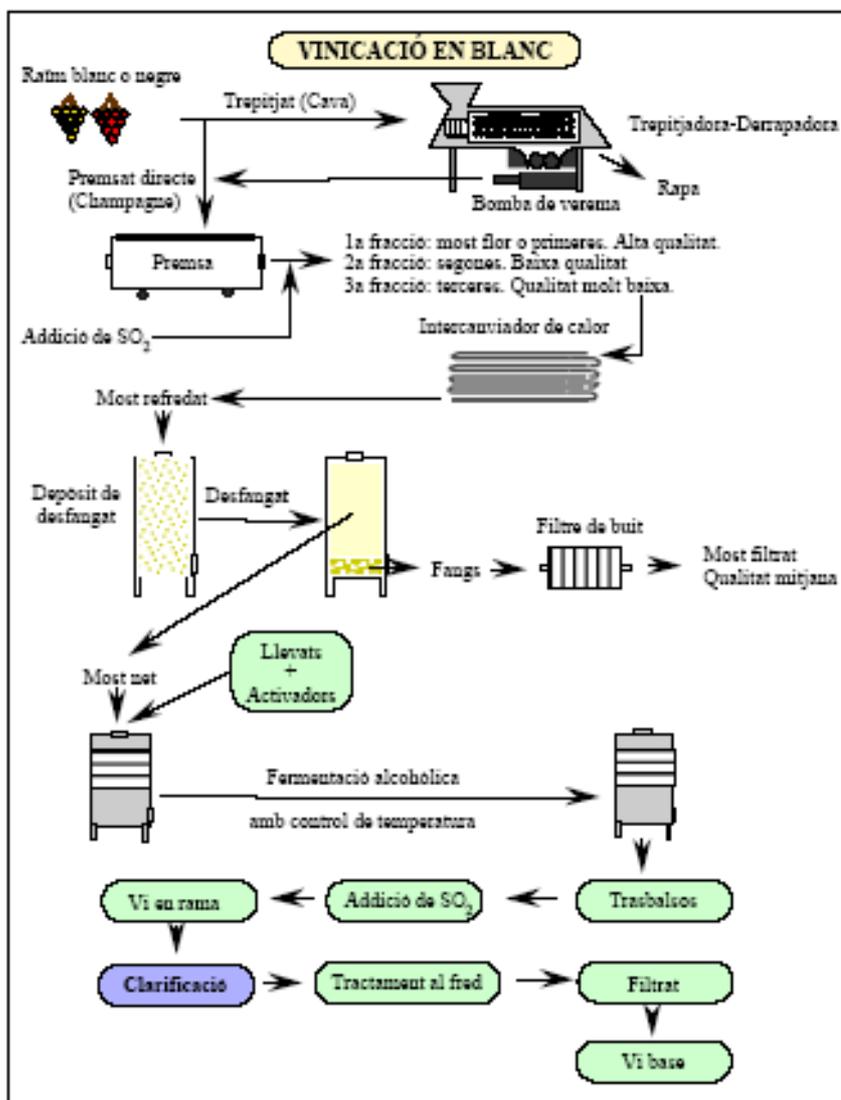
Finalizada la fermentación se hacen los trasiegos, que son tres: el primero un mes después de la fermentación maloláctica, el segundo antes de la clarificación natural y el tercero después de la clarificación del vino.

Se hacen mezclas de vinos a fin de obtener una calidad uniforme, esta operación se denomina “coupage”, y para ello se hacen catas analíticas para la selección. Para el coupage se incluyen también fracciones de vino de buenos años en una proporción que oscila entre el 25 y el 35%. Estas mezclas deben hacerse antes de tercer trasiego.

Después se realiza la estabilización física, química y biológica.

La Reglamentación de vinos espumosos fija las características que debe reunir el vino base:

- Alcohol: 9,5 a 11,5 °C
- Acidez total: > 3,5 g/l en sulfúrico
- Extracto seco no reductor: 13 a 22 g/l
- Acidez volátil real: < 0,6 g/l en acético
- SO₂ total: < 140 mg/l
- Cenizas: 0,7 –2 g/l



pH: 2,8 – 3,3

Fig.13- Preparación del vino base

1.4.3. Segunda fermentación

1.4.3.1. Embotellado del vino base

Al conjunto de operaciones que se le hacen al vino para embotellarlo se llama "tirage". Antes de ponerlo en la botella se hace un último análisis de ácido volátil, sulfuroso y azúcares reductores.

Las operaciones que comprenden el "tirage" son:

- Preparación de un jarabe de elevada concentración azucarada, utilizando azúcar de caña, este jarabe se llama "licor de tirage" y se prepara disolviendo en frío 500 g de azúcar en un buen vino añejo, se deja reposar 6-8 días y después se filtra. Este jarabe se mezclará en las proporciones adecuadas con el vino(1 atm CO₂ = 4,2-4,4 g de azúcar)
- Preparación de la levadura activa, otro de los secretos cuidadosamente vigilados por las empresas, ya que de la levadura depende ahora completamente el buen funcionamiento de esta segunda parte del ciclo.

Las levaduras que se utilizan para la elaboración de espumosos deben cumplir unos requisitos:

- Que no sean productoras de SH₂.
- Resistencia al alcohol y al sulfuroso.

- Rendimiento alcohólico elevado.
- Agotamiento completo de azúcares.
- Baja producción de acidez volátil.
- Capacidad fermentativa a baja temperatura (12-14 °C) y presión alta (5-6 atmósferas).
- Que formen depósitos arenosos o caseosos.

Una de las características más importantes es la facultad de fermentar a baja temperatura, por dos motivos fundamentales: uno, una mejor espuma por la más íntima compenetración del anhídrido carbónico en el líquido en el cual se desprende (neta mejora del "perlage" por finura de la burbuja y sobre todo por la elevada persistencia del fenómeno), y otro, por las ventajas organolépticas influenciadas por la duración y la temperatura a la que se realiza la fermentación. Sobre la facultad de las levaduras de fermentar a baja temperatura está basado el secreto de la mayor parte de las grandes firmas.

Las levaduras que se utilizan para la elaboración de espumosos pueden proceder de cultivos propios o pueden ser levaduras secas activas.

La siembra de levaduras se realiza mediante la técnica de "pie de cuba", y se prepara de forma distinta según se utilicen cultivos propios o levaduras secas, de forma que el número y estado en el "tirage" sea 1-2 millones de células por mililitro en el vino (de 2 a 3 litros de pie de cuba por hectolitro).

El tiempo de conservación es limitado ya que las colonias pueden perder o empobrecer sus características peculiares como consecuencia de una reproducción demasiado prolongada debido a demasiados trasplantes en medios artificiales y medios nutritivos.

Cada pocos ciclos hay que efectuar nuevamente el aislamiento ya que si se hacen repetidos pies de cuba con las mismas levaduras, pueden llevar a la multiplicación de bacterias patógenas.

En un recipiente se introduce el vino base, el licor de tiraje, levadura activa, y se añaden sustancias coadyuvantes para ayudar el removido (nutrientes, clarificantes, taninos).

En este momento es importante realizar una ventilación eficaz, no sólo para reducir el contenido residual de sulfuroso, sino para enriquecer al máximo el vino en oxígeno, por la necesidad de la levadura, la cual desde el embotellado en adelante no tendrá posibilidades de reabastecerse de este elemento tan indispensable en su ciclo biológico.

- Embotellado de la mezcla: las botellas empleadas para espumosos son de paredes gruesas, resistentes, capaces de soportar presiones de hasta 6 atmósferas. Existen botellas para espumosos de otras capacidades autorizadas por la CEE.

Existen líneas automáticas de tiraje de 8.000 botellas /hora.

- Taponado de la botella: se hace con el tapón corona (es un tapón provisional) que tiene un disco a modo de junta de granulado de corcho o polietileno. La resistencia perfecta necesaria en los tiempos largos del cava está asegurada por la utilización simultánea de un pequeño obturador de polietileno, que además actúa como contenedor de la mayor parte de las heces que allí se depositan cuando la botella está “en punta”

Los tapones corona pueden ser de hierro estañado, de aluminio o de acero inoxidable en el caso de espumosos conservados durante 7 u 8 años en cavas húmedas.

1.4.3.2. Refermentación en botella

Las botellas se colocan en posición horizontal en grandes hileras colocadas en forma alterna en el suelo de la cava o de la bodega, se dice que las botellas están en rima.

El tiempo necesario para completar la fermentación es variable, dependiendo de la temperatura a la que están sometidas las botellas y de la graduación alcohólica del vino. En términos generales, oscila entre 1 y 3 meses, en los cuales se forma CO₂ hasta una presión de 5-6 atm y se alcanzan 12-12,5°.

En lo concerniente a la temperatura que se adopta, se pueden subdividir en dos categorías:

- Temperaturas bajas (10-12 °C). La toma de espuma es a los 2 o 3 meses.
- Temperaturas altas (20-25°C). La toma de espuma se hace al mes ya que la fermentación se hace más rápidamente.

Las diferencias cualitativas son evidentes: bouquet menos fino (merma en aromas), perlage más basto (espuma poco resistente).

Una vez terminada la fermentación, el vino espumoso necesita reposo y una baja temperatura; las botellas se apilan en nuevos montones poniendo las de las filas más altas en las más bajas, consiguiendo que la maduración sea más uniforme; se aprovecha para eliminar las botellas rotas.

Cada vez que se deshacen los rimeros se aprovecha para agitar fuertemente las botellas con el fin de que los posos se pongan en suspensión, esta operación se conoce con el nombre de “coup de poignet” cuyo objeto es favorecer la sedimentación cuando la botella está en punta.

1.4.3.3. Maduración del vino espumoso sobre sus propias heces

La maduración del vino espumoso sobre sus propias heces es fundamental desde el punto de vista de sus características organolépticas.

Durante la maduración se produce una lenta y progresiva parálisis vegetativa de las levaduras, con la consiguiente muerte y autólisis de las células; como tienen proteasas, se liberan y se produce la hidrólisis de

pequeñas cantidades de péptidos, principalmente aquellos formados por alanina y arginina según Lurton y Guerrau (1988).

El período de maduración suele variar con la calidad del vino, pero en ningún caso puede ser inferior a nueve meses como señala la reglamentación. Durante el período de maduración se practicará el agitado de las heces (coup de poignet) por lo menos cada seis meses y la temperatura a la que debe mantenerse durante este tiempo es de unos 14 °C.

Al final de la fase de maduración se someten las botellas durante 10-12 días a temperaturas de – 5°C. Esta estabilización por frío favorece la clarificación.

1.4.4. Eliminación de los posos de la botella

1.4.4.1. Removido

Finalizada la fase de maduración se someten las botellas a una particular y circunstancial sacudida con el fin de separar completamente las heces de la pared de la botella y llevarlas a la punta, es decir contra el tapón de la botella invertida, para poder eliminarlas después con el degüelle.

El removido es una técnica especializada que exige una gran práctica por parte del personal que la ejerce, que varía con el tipo de vino, el año, el aspecto y comportamiento de las heces. El elevadísimo nivel de selección que presentan hoy las cepas de levaduras ha simplificado el removido, formando un sedimento mucho más fácil de poner en punta.

Removido en pupitre clásico: las botellas salidas de la fase de maduración en rima reciben el “golpe de puño” y se colocan por el cuello en los agujeros de los pupitres donde se dejan en reposo durante una semana aproximadamente, hasta que las heces se hayan depositado dejando el vino límpido. La posición de la botella en el agujero del pupitre en esta fase es de 25-30° inclinada negativamente sobre la horizontal. Desde el inicio de la operación cada botella se somete al removido cada 3-4 días durante un período variable que oscila entre 1 mes o 2, después de lo cual la botella estará en fase de punta. La primera semana el giro es de 1/8, las siguientes de 1/6 y las últimas de 1/4, de manera que cada vez se le da mayor inclinación hacia la posición vertical invertida. El sentido de la rotación es una vuelta completa en el sentido de las agujas del reloj y después en sentido contrario, para volver después al primer sentido.

1.4.4.2. Conservación en punta

Durante esta fase, las botellas que provienen de los pupitres (o de los otros dispositivos) en los cuales se encuentran en posición vertical invertida, se toman en esta posición y se transportan a otros locales a temperatura no

superior a 10 °C. Las botellas pueden permanecer en punta un día, un mes o incluso una año.

Durante esta fase las heces se adhieren al tapón y el bouquet se afina.

1.4.4.3. Degüelle

Esta operación elimina definitivamente las heces ya completamente depositadas contra la pared interna del tapón o del obturador en la botella conservada en punta, y para ello hay dos sistemas:

- Método a bolea. Con tapón de corcho; sólo se realiza en las botellas superiores al mágnun, que no pueden taparse con el tapón corona.

- Método tradicional. Consiste en la congelación de una parte del vino en el cuello de la botella: la parte que contiene las heces. Para éste propósito las botellas en punta se sumergen solo 4-5 cm en un baño de solución incongelable (etilenglicol al 45%) a una temperatura de -25 °C por un tiempo aproximado de 10 minutos.

Existen máquinas de degollar manuales para producciones limitadas; para producciones más grandes se utilizan degolladores automáticos y para líneas y producciones muy elevadas (6000-8000 botellas / hora) se utilizan destapadoras rotativas.

El degüelle por congelación permite respecto al degüelle a la bolea simplicidad de mano de obra, un aumento del rendimiento, menor pérdida de líquido (reducido a los 10-15 ml), menores pérdidas de presión, notable reducción del tiempo de permanencia en el pupitre, en cuanto que la última parte de la cola de las heces puede ser englobada en el bloque de hielo.

1.4.4.4. Dosificación del licor de expedición

Todos los tipos de espumosos de cava reciben al salir del degüelle la adición de más o menos azúcar, llamado licor de expedición, en función del cual se clasifican los distintos tipos de cava:

- brut nature < 3 g/l
- extra brut < 6 g/l
- brut <15 g/l
- extra seco 12-20 g/l
- seco 17-35 g/l
- semi-seco 33- 50 g/l
- dulce + de 50 g/l

La adición de azúcar se efectúa utilizando un jarabe de elevada concentración de azúcar (75 por 100 en volumen). Este jarabe se llama “licor de expedición” y se prepara con azúcar de caña que se disuelve en vino viejo y se añaden después licores apreciados.

El jarabe una vez preparado se filtra.

La botella proveniente del degüelle ha perdido una cantidad de vino (10-30 ml), pero como se tiene que añadir licor de expedición, en el caso de un cava brut la merma de degüelle será suficiente, pero no en el caso de los cavas más dulces. Por ello, para la dosificación del licor de expedición se utilizan máquinas que nivelan y dosifican.

1.4.5. Finalización del proceso

Las botellas se tapan con los tapones de expedición, que son los típicos en forma de seta y de corcho de primera calidad. Para que al descorchar la botella los tapones salgan con más facilidad, estos deben ser parafinados.

Colocado el tapón, se ata por medio de un bozal de alambre que lleva una placa metálica circular. El bozal debe llevar un anillo que facilite el descorchado de la botella.

Las botellas tapadas deben permanecer un tiempo en locales adecuados (15 días mínimo) a una temperatura de 10 °C. Temperaturas mayores llevan a un decaimiento organoléptico, debido a la caducidad de diversos compuestos olorosos en función de la temperatura. Durante este tiempo se consigue una total homogeneización del licor de expedición y se controlan las posibles pérdidas de líquido en alguna botella mal tapada.

1.5. OBTENCIÓN DEL ALCOHOL

ETÍLICO

1.5. Obtención del alcohol etílico

1.5.1. Obtención de alcohol etílico de materias primas amiláceas

1.5.1.1. Materias primas

Las principales materias primas amiláceas en la obtención de alcohol etílico para fabricar aguardiente son los cereales y las patatas. El centeno y el trigo se utilizan para fabricar destilados de granos y aguardientes y el mijo, la cebada, el maíz, la harina de tapioca y las patatas se usan principalmente para la fabricación de aguardiente. Cuanto menor es el contenido en agua y en proteína de los cereales tanto mayor es su contenido en almidón.

Material	Agua %	Proteína %	Grasa bruta %	Nitrógeno %	Fibra bruta %	Cenizas %
Centeno	13	7-18	1.7-1.9	60-73	1.7	2.0
Trigo	13	7-21	1.0-3.0	60-73	2.5	1.8
Mijo	11-12	9-12	3.0-4.5	Hasta 71	3.0	1.5-3.0
Maíz	12-13	9	Hasta 5	60-80	2.6	1.4
Cebada	11-13	8-13	2-3	52-58	Hasta 6.5	2.0-3.0
Harina tapioca	12	0.6	0.4	75-84	2.1	0.6
Patatas	68-85	0.7-3.7	Hasta 1.0	19.5-23	0.3-3.4	0.4-1.9

Tabla.1- Valores medios de composición de materias primas

Para evitar que se reduzca su contenido en almidón las materias primas deben almacenarse en condiciones técnicamente adecuadas. Antes de su empleo en la obtención de alcohol las materias primas deberán limpiarse convenientemente.

Para transformar el almidón de las materias primas en azúcares solubles fermentables se necesita el enzima amilasa. Como en la fabricación de cerveza, se utiliza malta como portadora de enzimas. También se emplean con frecuencia la malta verde y preparados de enzimas microbianos como hongos malteados. La malta de cebada tiene gran fuerza diastática. Por esta razón después de la germinación hay que reducir el contenido de agua del grano rápidamente lo que se consigue sometiendo a intensa ventilación la malta verde en un horno de desecación a una temperatura de 30 a 40° C, que se eleva finalmente a 45-55° C. Como en la malta utilizada en cervecería, el contenido final de agua es inferior al 5%.

En el proceso de malteado se prefiere, sin embargo, el uso de la malta verde. El principal inconveniente radica en que debido al elevado contenido de agua de la malta verde, superior al 41%, ésta no se conserva durante el almacenamiento como la desecada. También se emplean con frecuencia preparados de enzimas microbianos como amilasas bacterianas y amilasas fúngicas. Las amilasas bacterianas se obtienen principalmente del *Bacillus subtilis*. Otros microorganismos productores de amilasas como el *Bacillus coagulans*, *Bacillus stearothermophilus* y el *Streptomyces diastaticus*, difieren del *Bacillus subtilis* en lo que se refiere a estabilidad térmica. La α -amilasa

bacteriana se caracteriza por sus propiedades fluidificantes debido a que produce dextrinas especiales de 6 a 10 unidades de glucosa. Por el contrario, la α -amilasa fúngica produce esencialmente maltosa y glucosa. La amilasa fúngica se obtiene de *Aspergillus oryzae* y de *Aspergillus niger*, cultivados a 33° C sobre macerado de trigo. A las 48-72 horas de cultivo se obtiene malta fúngica. La malta fúngica da un rendimiento mayor que la malta de cebada.

1.5.1.2. Liberación y sacarificación del almidón

Para poder sacarificar el almidón por acción enzimática debe liberarse de las células vegetales de las materias primas. La liberación suele efectuarse en recipientes o depósitos cerrados con vapor a presión a temperatura de 100° C. Para liberar el almidón de cereales y patatas corrientes se somete a calentamiento con vapor a presión en un autoclave. La malta macerada a 100° C se calienta durante 45 a 60 minutos a una presión de 4 a 6 atmósferas. Al término del calentamiento se deja salir el vapor de forma que la presión descienda bruscamente para que se rompan y separen las paredes celulares y el almidón quede libre.

La sacarificación se realiza añadiendo la malta verde de cebada a las preparaciones enzimáticas microbianas a una temperatura de 55-57° C. Durante la fermentación toda la dextrina límite existente como el producto final del malteado es transformado en oligosacáridos y azúcares fermentables por las levaduras. A los 30 minutos el almidón ya está degradado enzimáticamente y cuando se alcanza la proporción deseada de maltosa/dextrina deberá

dejarse en reposo durante 60 minutos. Finalmente se enfriará antes de añadir la levadura.

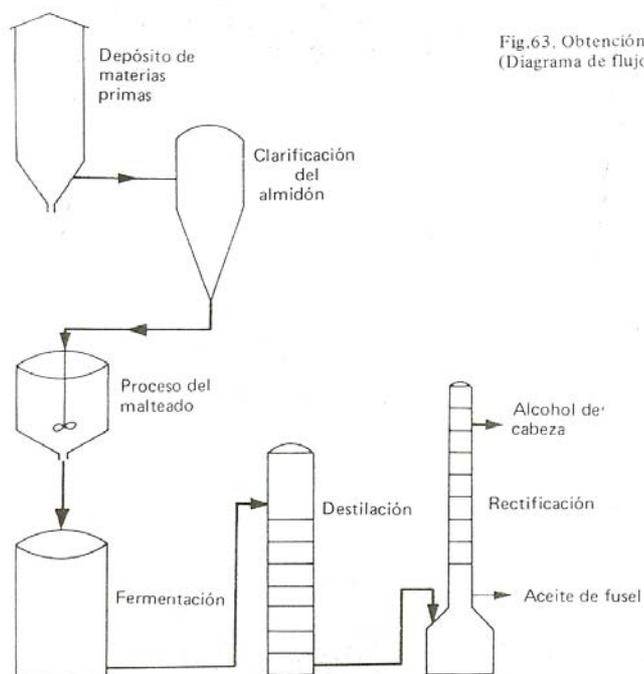


Fig.14- Obtención del alcohol

1.5.1.3. Fermentación

Al contrario de lo que ocurre en la fermentación de la cerveza, no es preciso separar la materia sólida ni inactivar los enzimas del malteado antes de añadir las levaduras y comenzar la fermentación. La malta que va a ser fermentada ha de inocularse con levaduras recientes de *Saccharomyces cerevisiae*. Aunque pueden utilizarse las levaduras de panadería normales es preferible, sin embargo, recurrir a levaduras de destilería especiales. Las cepas de levaduras de destilería especiales poseen la ventaja sobre las levaduras de panadería de poder adaptarse a concentraciones altas de alcohol (hasta el 8%). En la fermentación no puede utilizarse cultivos puros como en la

fabricación de cerveza debido al elevado contenido en materias sólidas del macerado. Es preciso propiciar el desarrollo de las levaduras de destilería ya que el macerado se encuentra contaminado por bacterias y otros microorganismos adventicios y para ello se añaden al macerado del recipiente de fermentación ácidos minerales (sobre todo sulfúrico) o ácido láctico que inhiben el desarrollo de los últimos y facilitan así la propagación de las levaduras. Después de ajustar a 3,4-3,5 el pH del macerado del recipiente de fermentación y de inocular las levaduras, el macerado se mantiene a 24° C durante 24 horas, momento a partir del cual las levaduras se han multiplicado lo suficiente como para poder añadir una nueva carga de macerado. En la práctica se sigue un procedimiento semicontinuo basado en el empleo de cultivos de unas 20 horas de macerado de malta. Cuando por la acción de las levaduras tiene lugar la fermentación del macerado, se transfiere a un recipiente especial el 5% de aquél y se ajusta su pH a 3,0 – 3,2 con ácido sulfúrico. Pasadas unas horas se añade una nueva carga de macerado fresco azucarado y se deja fermentar a 23-25° C durante unas 20 horas, de modo que fermente el 40-50% del extracto. La fermentación principal tiene lugar seguidamente a una temperatura mayor, a 30-32° C. Paralelamente a la fermentación alcohólica se degrada la dextrina límite por la acción de los enzimas que todavía contiene el macerado o malta. Para que prosiga después la sacarificación el valor del pH deberá ser superior a 4,3-4,2.

Cuando en el macerado se desarrollan los microorganismos contaminantes se reduce considerablemente la capacidad de fermentación de las levaduras y también puede resultar afectada la actividad amilasa. En tales casos es

indispensable añadir un antiséptico al macerado; el formaldehído da buenos resultados a este respecto, ya que detiene el crecimiento bacteriano sin apenas afectar al de las levaduras. Por cada 1000 litros de macerado se añaden de 150 a 200 cm³ de solución de formalina al 40%.

1.5.2. Destilación y rectificación

El mosto fermentado contiene además de alcohol y agua, aldehidos, alcoles superiores, aceite de fusel, ácidos volátiles, ésteres y otras sustancias volátiles y materia sólida. Las etapas tecnológicas de destilación y rectificación que siguen al procesado del cereal tienen por objeto obtener el alcohol existente y separarlo de los restantes componentes volátiles. Se distingue una destilación periódica y otra continua. En la destilación periódica, la tasa de alcohol aumenta al pasar a aguardiente bruto mediante destilaciones repetidas en el alambique simple o doble. Los modernos aparatos destiladores suelen constar de columnas dotadas de 12 o más pisos de campana. Con tales dispositivos puede conseguirse en un funcionamiento continuo un contenido de alcohol del 83%. En la rectificación subsiguiente se eliminan los subproductos de la fermentación alcohólica. El aguardiente bruto se diluye al 45% luego se destila lentamente en columnas de rectificación. En el primer producto de destilación se concentran aldehídos y ésteres. En la fracción intermedia se obtiene alcohol secundario todavía no valioso por completo. Acto seguido se procede a la separación del alcohol selecto. El último destilado contiene sobre todo los alcoholes superiores.

En el cereal agotado quedan valiosas sustancias proteicas de las materias primas, así como de la levadura. Este producto residual, llamado bagazo de aguardiente, es por lo tanto un buen pienso.

1.5.3. Obtención de alcohol de otras materias primas

Aparte de los cereales y patatas, existen otras materias primas ricas en hidratos de carbono como la remolacha, las mezclas azucaradas de remolacha y de caña de azúcar, la madera, los materiales celulares lixiviados y algunas frutas, que pueden servir de base para la obtención de alcohol. En la fermentación alcohólica de las remolachas se procede de manera similar a la fabricación de azúcar. En primer lugar se obtiene el jugo azucarado de las remolachas previo cortado y trituración de las mismas. Puesto que el jugo bruto obtenido contiene muchos gérmenes, la mayoría bacterias procedentes de la fermentación de la remolacha, es preciso someterlo a un tratamiento de esterilización previo a la fermentación; ésta se efectúa preferentemente en grandes reactores provistos de sistemas de agitación mediante levaduras de destilería o de fábrica de aguardiente. La temperatura de fermentación varía según el procedimiento entre 23 y 28° C. El proceso de fermentación puede ser continuo o discontinuo y en él, debido a la elevada temperatura de fermentación y a la agitación, tiene lugar una fermentación tumultuosa frecuentemente acompañada de una intensa producción de espuma.

Las melazas azucaradas de remolacha y de caña de azúcar contienen con frecuencia un elevado número de gérmenes, que en algunos casos puede llegar a 10^7 bacterias por kg de melazas. Se trata generalmente de bacterias esporuladas. Junto a *Bacillus subtilis*, *B.megaterium* y *B.pumilis* se encuentran también cocos, hongos y levaduras osmófilas. Para evitar problemas en el curso de la fermentación conviene determinar previamente la carga microbiana de las diferentes partidas o remesas de melazas. Debido al tratamiento con cal las melazas de la fabricación de azúcar son alcalinas y pobres en ácido fosfórico. Para favorecer la fermentación es necesario añadirles sustancias nutritivas como sulfato amónico, sulfato magnésico, superfosfatos, extractos de levadura y otros nutrientes. En la fermentación de las melazas de remolacha es especialmente recomendable el aporte de fósforo. El contenido en nitrógeno de las melazas suele ser suficientemente elevado para permitir la propagación de las levaduras y la fermentación. Las melazas de remolacha y de caña de azúcar también pueden contener diversas sustancias nocivas para la propagación de las levaduras y la fermentación. Entre ellas figuran los ácidos volátiles que no deberán exceder del 15-20% de la acidez total. Un contenido elevado de anhídrido sulfuroso puede también impedir la fermentación. En tal caso, el anhídrido sulfuroso puede oxidarse a sulfato con NaClO_3 .

El contenido de ácidos volátiles puede reducirse mediante la aireación de las melazas. Una concentración del 0,005% influye negativamente en el crecimiento de las levaduras.

Cuando las melazas contienen mucha rafinosa también se reduce el rendimiento de las levaduras de destilería corrientes. Por ejemplo, *S.cerevisiae* sólo fermenta 1/3 de la rafinosa. En diferentes países se han seleccionado en cultivo puro cepas de levaduras de destilería capaces de fermentar totalmente la rafinosa. Casi todas las melazas de caña de azúcar están contaminadas por bacterias anaerobias esporuladas y a ello se debe que posean con frecuencia un elevado contenido de ácido butírico. Las melazas de caña de azúcar fermentan fácilmente debido a que carecen de rafinosa y son ricas en azúcares fácilmente fermentescibles.

1.5.4. Fabricación de bebidas alcohólicas

El alcohol obtenido por fermentación se destina en gran parte a la preparación de bebidas alcohólicas. Las bebidas alcohólicas para consumo humano se obtienen por destilación del etanol producido por fermentación de las sustancias azucaradas de las materias primas. El contenido alcohólico varía mucho, entre 20 y 50 volúmenes por ciento principalmente (en ocasiones más). El aroma no está determinado por el alcohol sino por los productos secundarios de la fermentación; el sabor se debe a productos de extracción y destilación de plantas y frutas, y también contribuyen al sabor los zumos de frutas, aceites esenciales y esencias naturales.

En la destilación se recuperan diferentes sustancias aromáticas responsables del olor y sabor de los productos que juntamente con el agua y el alcohol se

utilizan en la preparación de bebidas alcohólicas, como el aguardiente (aguardiente claro, aguardiente normal, vodka...), el brandy (coñac, ron, arrak, aguardiente de granos de cereal, aguardiente de frutas...), licores (de zumos de frutas, de hierbas, de aromas de fruta, de especias, de emulsiones...) y otros como güisqui, ginebra, escarchados...

1.5.5. Métodos de estabilización biológica de las bebidas alcohólicas

La cerveza y el vino se alteran fácilmente a consecuencia de la actividad de diferentes microorganismos. Por esta causa durante la fabricación y hasta su envasado se requiere de una limpieza y desinfección rigurosa y un intenso control biológico. El último tiene por objeto comprobar la posible presencia de microorganismos causantes de problemas, tanto en la materia prima como en las sustancias auxiliares, en los productos en fase de preparación y en los productos acabados, y en tomar medidas adecuadas para conseguir una calidad óptima.

La estabilidad microbiológica de las bebidas alcohólicas puede aumentarse con distintos procedimientos:

- Acción del calor (pasteurización y esterilización)
- Esterilización por filtración
- Acción de sustancias antimicrobianas activas
- Acción de radiaciones

Uno de los procedimientos más frecuentes es la pasteurización, en la que se destruyen esencialmente las formas vegetativas de los microorganismos. Este proceso puede aplicarse antes o después del envasado. Para expresar el efecto de los tratamientos de pasteurización de la cerveza se toma como medida la unidad de pasteurización, 1UP, que expresa el efecto microbicida del calentamiento a una temperatura de 60° C durante un tiempo de retención de un minuto. La temperatura más baja que se utiliza para pasteurizar eficazmente la cerveza es de 46° C que tiene un efecto de 0,01 UP, es decir, que a esa temperatura necesitamos 100 minutos de calentamiento para conseguir el mismo efecto que calentando a 60° C durante 1 minuto.

La pasteurización de bebidas no envasadas se realiza en un cambiador de calor que opera a contracorriente. La estabilidad biológica se asegura calentando a una temperatura de 65-70° C durante un tiempo de retención de 20 segundos. En esta técnica denominada de pasteurización en flujo continuo, se requiere un envasado aséptico para evitar las recontaminaciones. La contaminación de las botellas debe ser muy baja. En algunos países se regula el número máximo de microorganismos admisible en las botellas limpias (300-500 gérmenes por botella de 500 cm³).

Para el envasado de la cerveza y el vino pasteurizado con esta técnica se recomienda el embotellado en caliente, que tiene la ventaja de que hasta que se enfría el calor remanente la bebida destruye todas las formas vegetativas de los gérmenes que contaminan la botella. Se recomiendan, sin embargo, embotelladoras especiales que eviten la oxidación de la cerveza bien haciendo

el vacío durante el embotellado o desplazando el aire con dióxido de carbono o nitrógeno. Así se previenen las modificaciones organolépticas causadas por oxidación. Un grave inconveniente del embotellado en caliente es que el largo período de enfriamiento que tiene lugar permite que se produzcan alteraciones del sabor por su efecto de calor.

Una técnica muy extendida es la de pasteurización en botellas. En este procedimiento los microbios se destruyen al pasar las botellas por túneles en los que se someten a calentamiento por aspersión con agua caliente y seguidamente se enfrían con agua fría. En esta técnica se destruyen simultáneamente los gérmenes que contaminaban originalmente el producto así como los contaminantes de las botellas. Debido a que el enfriamiento es mucho más rápido no hay peligro de que se produzcan modificaciones del sabor por el efecto del calor.

El sistema de pasteurización que se adopte dependerá de las condiciones técnicas de la industria y de las condiciones económicas. La estabilidad biológica de las bebidas también puede incrementarse mediante la esterilización por filtración. Ésta técnica no se usa mucho puesto que puede eliminar algunos componentes de la bebida que tienen importancia en la determinación del sabor y olor; además su coste es más elevado que el de la pasteurización por el calor y no evita posibilidades de recontaminación en el embotellado.

Para aumentar la estabilidad biológica de las bebidas se ha recomendado la adicción de sustancias bactericidas. Algunos ésteres del ácido benzoico tienen un buen efecto inhibidor sobre diferentes levaduras, micrococos y bacilos acidolácticos. Entre tales compuestos se encuentran el n-heptilparahidroxibenzoato, el n-octil 3, 5-dihidroxibenzoato, y sobre todo el n-octil 3, 4, 5-trihidroxibenzoato. Este último éster es el más adecuado para la conservación de la cerveza. Puede añadirse juntamente con la tierra de diatomeas utilizada en la filtración y en la cerveza actúa eficazmente a una concentración de 10 ppm.

En la industria vinícola frecuentemente hay que enfrentarse con una corta vida de almacén de vino, a consecuencia del crecimiento de las levaduras. Para evitar el desarrollo de éstas se recomienda añadir al vino sorbato potásico. El efecto antimicrobiano del ácido sórbico se debe esencialmente a la molécula indisociada que actúa eficazmente frente a *S.cerevisiae*, *Aspergillus niger* y también frente a bacterias como *E.coli*.

También ha sido muy discutido el empleo de los antibióticos en la industria de las bebidas. Sin embargo, por razones de salud pública, los antibióticos no se usan en la industria de bebidas.

El empleo de las radiaciones ionizantes para destruir los microorganismos de bebidas como la cerveza no es aconsejable por las intensas modificaciones que se producen en el sabor, olor y color del producto tratado y por el coste relativamente elevado del tratamiento.

PARTE 2

Tratamientos **emergentes en la** **industria de bebidas**

2.1. TRATAMIENTO POR ALTAS

PRESIONES

2.1. Tratamiento por altas presiones

2.1.1. Introducción

El potencial de la alta presión (AP) para conservar los alimentos se conoce desde finales del siglo XIX. Su utilidad en este campo fue señalada por Bert h. Hite, a partir de los estudios sobre los efectos de las AP en la conservación de la leche, carne y zumos de frutas. Durante mucho tiempo, los problemas tecnológicos derivados de manipular AP supuso un freno, pero gracias al desarrollo de las altas presiones en la industria cerámica y metalúrgica durante los setenta y ochenta del siglo XX, se abrió la posibilidad de tratar alimentos por este método a escala industrial.

En los ochenta, Japón fue pionero en el desarrollo de la AP aplicada a alimentos, comercializando a partir de 1990 una mermelada tratada con esta técnica, siguiendo posteriormente aplicándola a otros alimentos debido a la gran respuesta de los consumidores, que valoran las características organolépticas de los productos tratados. En 1998 una industria en EEUU comenzó a comercializar una ensalada de alvocat tratada por AP, mientras que en Europa se empezaban a comercializar los primeros productos tratados con AP.

Utilizando este tratamiento se obtienen productos que conservan casi intactas las vitaminas, los sabores, aromas y colores naturales.

2.1.1.1. Definición del proceso

Se entiende por alta presión la tecnología con la que son tratados los materiales a presiones entre los 100 y los 1 000 MPa. Como el medio utilizado para transmitir la presión suele ser el agua suele llamarse también alta presión hidrostática (APH). Al incrementar la presión se produce un pequeño descenso de volumen del agua (4% a 100MPa, 7% a 200MPa, 11,55% a 400 MPa, T de 22° C).

La presión aplicada se transmite de manera isostática, uniforme, y de forma casi-instantánea en todos los puntos del producto, independientemente del producto, composición, tamaño y forma. Esto evita la deformación y hace que no presente zonas sobretratadas. Una vez presurizado no es necesario aportar más energía para mantener el sistema a esta presión, por que no se producen pérdidas.

El comportamiento de los sistemas bioquímicos bajo presión son gobernados también por el principio de Le Chatelier, que postula que la AP favorece las reacciones que implican una disminución del volumen y retarda las que el volumen aumenta.

Como que la AP se utiliza en alimentos para mejorar la calidad microbiológica y las características fisicoquímicas y sensoriales, se han de escoger las condiciones de tratamiento más adecuadas, según cual sea el objetivo prioritario. Las presiones oscilan entre 100 y 1000MPa, el tiempo de aplicación

oscila entre pocos minutos y algunas horas y la temperatura de los -20 a los 90° C.

2.1.1.2. Campo de aplicación

Entre los nuevos métodos de conservación de alimentos, la AP es probablemente la tecnología más desarrollada comercialmente.

Cuando un alimento es tratado se observan los efectos siguientes:

- modificación del volumen del sistema
- modificación de la estructura del almidón y las proteínas
- modificación de la actividad enzimática y la inactivación de los microorganismos

A presiones inferiores a 200 MPa los efectos son: influencia sobre la cinética enzimática, modificación de las propiedades físicas de las proteínas y alteración de la membrana de los microorganismos.

A presiones entre 200 y 300 MPa los efectos son: inactivación enzimática irreversible, muerte de los microorganismos.

A presiones entre 300 y 400 MPa los efectos son: gelificación de los almidones, desnaturalización de las proteínas.

A presiones entre 400 y 500 Mpa los efectos son: muerte de las esporas bacterianas, inactivación de los enzimas.

Inicialmente la ventaja principal de este tratamiento es que podía sustituir parcial o totalmente el tratamiento térmico cuando el objetivo era la destrucción microbiana.

Durante los últimos años se han hecho muchos estudios sobre la presión y sus efectos. Paralelamente, también se comercializan diversos productos tratados por AP, pero aun es necesario continuar investigando para conseguir que las AP sean más competitivas.

2.1.2. La tecnología de la alta presión

2.1.2.1. La cámara de alta presión y su cerramiento

Un equipo industrial de AP consta básicamente de una cámara de presión y sus sistema de cerramiento, un sistema de generación de presión, un sistema de control de la temperatura y un sistema de manipulación del producto.

La cámara de presión es el componente principal, suele ser en muchos casos un cilindro construido con una aleación de aceros. El uso de estas cámaras generalmente esta limitado a presiones de trabajo de entre 400 y 600 MPa. En

caso de necesitar presiones superiores se utilizan diseños de aceros especiales multicapas.

Según su aplicación, se pueden utilizar diferentes diseños de cerramiento. Cuando el tiempo de presurización es corto se utilizan cerramientos de rosca discontinua de obertura y cerramiento rápidos. De esta forma, el tiempo se minimiza y la productividad de la cámara, expresada en número de ciclos por unidad de tiempo o en producto, se maximiza.

Cuando el tiempo de obertura y cerramiento es despreciable en comparación con el ciclo de proceso se utilizan cerramientos de rosca continua, mas baratos.

2.1.2.2. Generación de AP

Cuando la cámara es cargada con el alimento, se cierra y se llena con el medio de transmisión de la presión, que suele ser agua potable con un pequeño porcentaje de aceite soluble para lubricar las bombas y evitar la corrosión.

Por este motivo, las partes internas de la cámara, los tubos, las válvulas y el intensificador de presión en contacto con el agua, los agentes químicos de limpieza o el alimento, han de estar protegidos de la corrosión, razón por la cual es necesario emplear acero inoxidable.

La alta presión se puede producir por diferentes métodos:

- Compresión directa, que es generada por medio de la presurización de un medio sobre la parte final de un pistón. El diámetro grande del final del pistón se mueve con una bomba de baja presión. Este método de compresión directa permite una compresión muy rápida, pero las limitaciones en el cerramiento dinámico de la AP entre el pistón y la superficie interna de la cámara restringen el uso de este método a diámetros pequeños de laboratorio o planta piloto. Generalmente, los sistemas de presurización directa trabajan a presiones más bajas que el método de compresión indirecta.

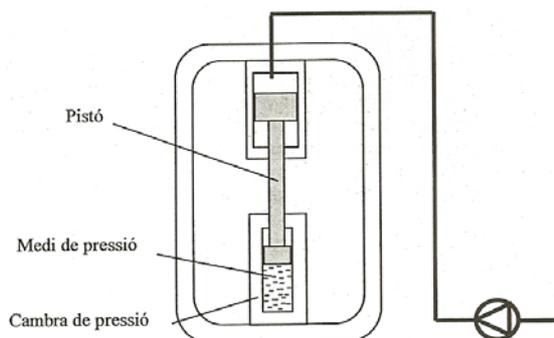


Fig.15- instalación de alta presión con compresión directa

- Compresión indirecta, que utiliza un intensificador de alta presión para bombear el medio de presión desde un depósito hasta la cámara de presión cerrada hasta que se consiga la presión deseada. La mayoría de sistemas industriales utilizan este método

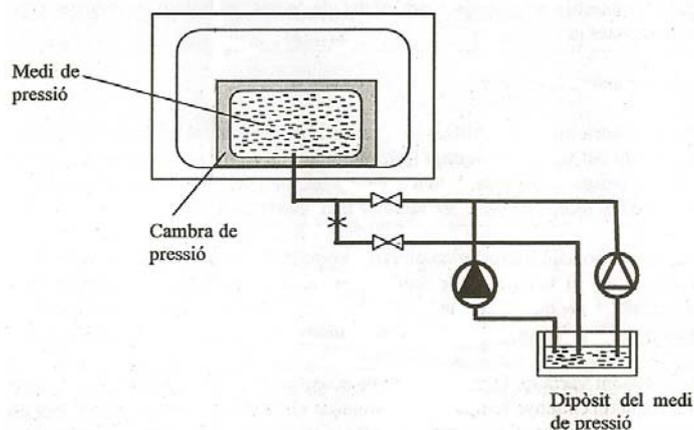


Fig.16- instalación de alta presión para compresión indirecta

- Calentamiento del medio de presión, que utiliza la expansión del medio de presión mediante el aumento de la temperatura para generar alta presión. Este método no se acostumbra a utilizar en aplicaciones del tratamiento de AP en la industria alimentaría ya que esta técnica se utiliza precisamente como tratamiento no térmico del alimento.

2.1.2.3. Diseño del equipo industrial

Las investigaciones realizadas han demostrado que la mayoría de aplicaciones comerciales de la AP que interesan se pueden conseguir con combinaciones de presiones en el rango de 400-600 MPa, a temperaturas de entre 5 y 90° C y un tiempo del orden de los 10-30 minutos. El desarrollo actual de la tecnología permite alcanzar fácilmente estas condiciones.

Un ciclo de presurización corto es esencial para la viabilidad económica del tratamiento. Las consideraciones económicas también implican un uso intensivo de estos equipos de coste elevado. Por ejemplo, un tiempo de

proceso corto, combinado con 3 turnos de 8 horas al día 300 días al año significa cien ciclos o más al día y miles al año y por cámara.

Actualmente, gracias a los más de 30 años de experiencia, se pueden construir cámaras con ciclos de vida largos.

El tratamiento por altas presiones es esencialmente un tratamiento por lotes: el desarrollo de la tecnología actual no permite el paso de los alimentos envasados, o incluso a granel, de la presión atmosférica a una presión de centenares de MPa de forma continua. Por este motivo, la capacidad de producción de un equipo de AP es el producto de tres parámetros: el nº de ciclos por cámara y por hora, el volumen del lote por cámara y el nº de cámaras del sistema.

El nº de ciclos por hora que puede realizar una cámara viene determinado por el ciclo de tiempo. Este ciclo es la suma del tiempo de manipulación del material (tiempo de carga, descarga...), el tiempo de aplicación de la presión y el tiempo de presurización y despresurización. El carácter instantáneo de la presión hidrostática ofrece la posibilidad de conseguir tiempos de tratamiento cortos. Al contrario que en el tratamiento térmico, la duración del tratamiento no está influida por el fenómeno de transmisión de presión, sino únicamente viene determinada por las cinéticas de inactivación y las reacciones químicas que tienen lugar a una presión determinada.

La manipulación del alimento varía de forma considerable según el tipo de proceso que se aplique. El tratamiento a granel requiere menos tiempo para reemplazar el producto tratado por AP para un nuevo lote sin tratar que el procesamiento de alimentos envasados, en que se ha de añadir al tiempo de carga y descarga del alimento, el tiempo de obertura y cerramiento de la cámara.

Finalmente, el ciclo total de tiempo viene determinado por el tiempo de compresión y descompresión. Para un determinado volumen de la cámara, el tiempo de compresión depende únicamente de la capacidad de la bomba. Desde un punto de vista técnico, se puede conseguir la presurización de una cámara de centenares de litros a 400MPa en pocos segundos instalando una bomba con una capacidad adecuada.

La descomposición de la cámara puede conseguirse en un tiempo muy reducido, debido a la baja compresibilidad de los alimentos.

El volumen de alimento es el producto del volumen interno de la cámara y la eficiencia con que este volumen es utilizado. A presiones altas como a 600MPa existe un límite en el tamaño de las cámaras que se pueden construir y, por tanto, en el volumen interno efectivo de la cámara. A pesar de esto, como muestra la tabla siguiente, el estado de la tecnología permite construir cámaras extremadamente grandes, con un volumen interno muy significativo.

El coeficiente de llenado, expresado como el porcentaje de volumen de la cámara que se llena realmente con este alimento, es más alto en el procesamiento de líquidos a granel (hasta el 95%) que con el procesamiento de productos envasados (entre el 45% y el 75%)

Presión máxima de trabajo (MPa)	Diámetro (mm)	Longitud (mm)	Volumen
100	1 700	4 000	9 000
200	1 000	4 000	3 150
400	600	4 500	1 250
550	600	2 500	700
690	250	750	37
1 030	100	1 000	8,5
1 380	90	550	3,5

Tabla.2- Ejemplos de cámaras existentes (Mertens, Knorr)

La productividad del equipo se puede incrementar multiplicando el nº de cámaras del equipo. Las consideraciones sobre los elementos técnicos y el coste de inversión y de la operación determinan la configuración óptima.

Así, teniendo en cuenta las tres consideraciones anteriores, resulta claro que se pueden conseguir fácilmente producciones de diversas toneladas por hora con la tecnología actual de la AP.

2.1.2.4. Seguridad de la instalación

Respecto a la seguridad, hay que comentar dos puntos importantes. En primer lugar, que la energía contenida en una cámara de AP a diversos cientos de MPa, llena de agua o alimento, es muy limitada. La energía se almacena de dos formas, como tensión en las paredes de la cámara y como compresión del medio presurizado. En la práctica, la energía contenida en las paredes de la cámara representa una fracción muy pequeña de la energía total almacenada y por tanto se puede despreciar.

La energía de compresión contenida en una cámara de AP se puede calcular de forma aproximada con la siguiente expresión:

$$\text{Energía} = 2/5 \cdot c \cdot P \cdot V_0$$

Donde c representa la compresibilidad del medio de presurización, P es la presión y V_0 el volumen inicial.

La tabla siguiente muestra energías de compresión contenidas en cámaras de AP, según el volumen interno de esta a una presión de 400 MPa. Se puede observar que la energía contenida es mínima.

Volumen interno (l)	Energía (kJ)
10	193
50	960
100	1 920
250	4 800
1 000	19 200

Tabla.3- Energía de compresión contenida en cámara de presión llena de agua a 400 MPa según volumen cámara

En segundo lugar, es importante destacar nuevamente que la tecnología de AP no es nueva. Como que los equipos de AP se utilizan de forma habitual las reglas de seguridad han sido muy bien definidas para garantizar la seguridad.

2.1.2.5. Sistemas de tratamiento con productos envasados

Esta técnica implica la presurización de un número determinado de envases previamente llenados con el alimento a tratar.

La capacidad del equipo depende principalmente de las características siguientes:

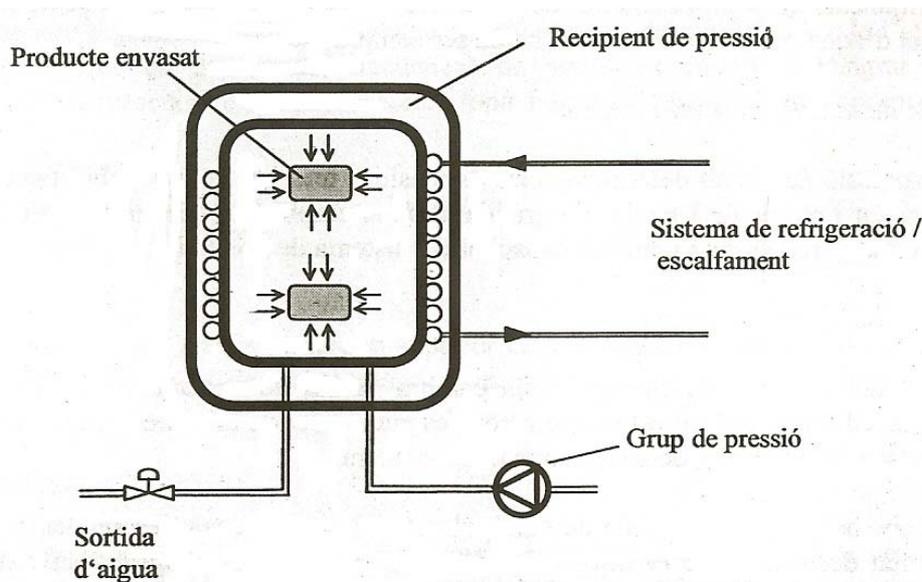


Fig.17- tratamiento de alta presión para alimentos envasados

Presión aplicada: contra mayor sea la presión, mayor deberá ser la capacidad de la bomba para conseguir la presión en el tiempo especificado

Envases utilizados en el tratamiento de AP: los envases que se someten a AP deben ser flexibles y han de poder sellarse herméticamente. El llenado de los envases debe ser óptimo. No deben contener aire en su interior, porque la presencia de este puede incrementar drásticamente el tiempo para completar la presurización, como también el riesgo de rotura del envase durante el tratamiento. Por motivos de capacidad de producción, es importante que se puedan tratar el máximo número posible de unidades en cada ciclo de compresión. El diseño del envase es muy importante por tal de conseguir un coeficiente de llenado óptimo y, por tanto, para la viabilidad económica del proceso. El coeficiente de llenado se puede optimizar adaptando la forma y el tamaño del envase a la forma cilíndrica de la cámara en general y al diámetro interno de la cámara en particular. El uso de envases de 1 litro con forma

hexagonal y un tamaño adaptado a las dimensiones de la cámara puede dar un resultado de un coeficiente de llenado del 75%.

Los materiales más estudiados en este proceso son el copolímero alcohol vinílico-etileno (VEO), el alcohol polivinílico (PVOH), el polietileno de baja intensidad (LDPE), el acetato vinílico etileno (EVA), el polietilano teraftelado (PET9 o el polipropileno (PP). También se ha demostrado que las hojas de aluminio se pueden utilizar en combinación con el proceso de AP.

Para envases rígidos, como el vidrio o el metal, se ha sugerido que se puede aumentar la flexibilidad total del envase mediante la incorporación de zonas compresibles o cierres de plástico flexibles, pero se ha de probar aun la viabilidad de estas soluciones.

Tamaño de la cámara de alta presión: para una presión de trabajo determinada las dimensiones internas de una cámara hacen un papel importante en la capacidad y el coste del equipo. El tamaño de la cámara ha de tener en cuenta la capacidad de producción que se requiere y también la capacidad del sistema de bombeo.

Carga y descarga de la cámara: el sistema de carga y descarga debería ser automático y diseñado de tal forma que estas operaciones se pudieran hacer de la manera más rápida posible para no afectar a las necesidades de ciclos cortos. Las funciones básicas del sistema de manipulación del producto son las siguientes: un cargador recibe una cantidad determinada de envases

individuales sin tratar y los agrupa en cestos cilíndricos. Un sistema de transporte coge la pila cilíndrica de envases sin tratar y la introduce en la cámara de presión; después del tratamiento de presión el mismo sistema de transporte quita el producto tratado de la cámara y lo transfiere al descargador, que vuelve a separar los envases apilados tratados y los sitúa en una cinta transportadora hacia su envasado secundario. Los cestos vacíos son transferidos automáticamente del descargador al cargador.

La mayoría de cámaras de AP se instalan de forma vertical, cosa que hace necesario que los productos tratados y sin tratar se encuentren bien separados e identificados, con tal de evitar que se mezclen productos tratados con no tratados. Por este motivo, se han comenzado a instalar equipos con la cámara en posición horizontal, lo que permite acceder fácilmente a los dos extremos. El tiempo de obertura y cierre son del orden de 20 segundos, aproximadamente, cosa que evita mezclar o cruzar el flujo de los productos tratados con el de los no tratados.

2.1.2.6. Sistemas de tratamiento con productos líquidos a granel

Esta técnica sólo es aplicable a productos que puedan ser bombeados y permite hacer el tratamiento de forma semicontinua. Requiere un sistema específico para llenar la cámara con el líquido sin afectar la calidad del alimento. Se ha de intentar llenar la cámara con la máxima cantidad posible de producto para evitar la presencia de aire. En este caso, además, el alimento esta en contacto directo con el acero de la cámara, que ha de ser de un tipo

que no experimente corrosión durante su ciclo de vida y que sea adecuado para estar en contacto con el producto. Una bomba presuriza el agua, que se encuentra separada del alimento por un pistón separador. El alimento, presurizado ha de ser evacuado de la cámara por medio de una unidad de válvula aséptica de alta presión, diseñada adecuadamente y que permita altos caudales sin dañar el producto.

Otro punto a tener en cuenta es que cada uno de los componentes del equipo de alta presión que está en contacto con el alimento debe ser fácilmente de limpiar y desinfectar.

El sistema de tratamiento a granel ofrece la ventaja que el sistema de manipulación del alimento es mucho menos importante que en el caso del tratamiento de productos envasados. A pesar de esto, el proceso a granel requiere un diseño aséptico y una fabricación especial de los componentes del equipo.

La secuencia del tratamiento es la siguiente:

Llenado: inicialmente, el pistón se sitúa en la parte superior de la cámara y se mantiene mediante la presión de agua. El líquido que ha de ser procesado se introduce mediante una bomba y empuja el pistón hacia abajo.

Tratamiento de alta presión: el intensificador de presión incrementa la presión de acuerdo con las condiciones programadas y se detiene cuando ha alcanzado la presión requerida. Después del tiempo programado, se abre le

circuito para evacuar el agua a través de una válvula de regulación, y el sistema de regulación controla el descenso de la presión según las condiciones programadas

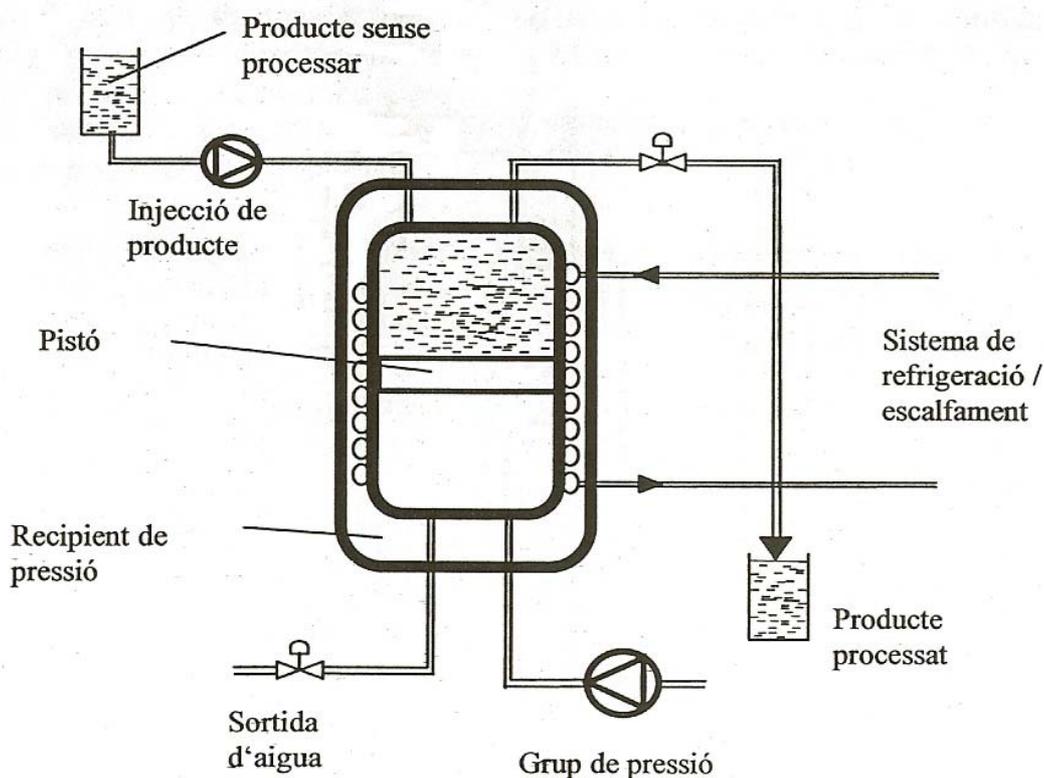


Fig.18- tratamiento de AP para líquidos a granel

Expulsión: el pistón es empujado hacia arriba por la bomba y el producto tratado es expulsado de la cámara y transportado al tanque de producto final. El producto final debe ser envasado desde el tanque mediante una línea de llenado aséptico.

Tiempo de procesamiento: el tiempo total del ciclo de procesamiento depende del tiempo de tratamiento de presión que requiere el alimento. También

depende de la capacidad del intensificador de presión para alcanzar la presión requerida y de la capacidad de las bombas auxiliares.

Para un alimento que requiere un tratamiento de 1 minuto, el ciclo total de tratamiento del alimento podría ser el siguiente:

Llenado: 1,0 min

Presurización: 1,5 min

Tiempo de mantenimiento de la presión: 1,0 min

Despresurización: despreciable

Expulsión: 1,0 min

Total: 4,5 min

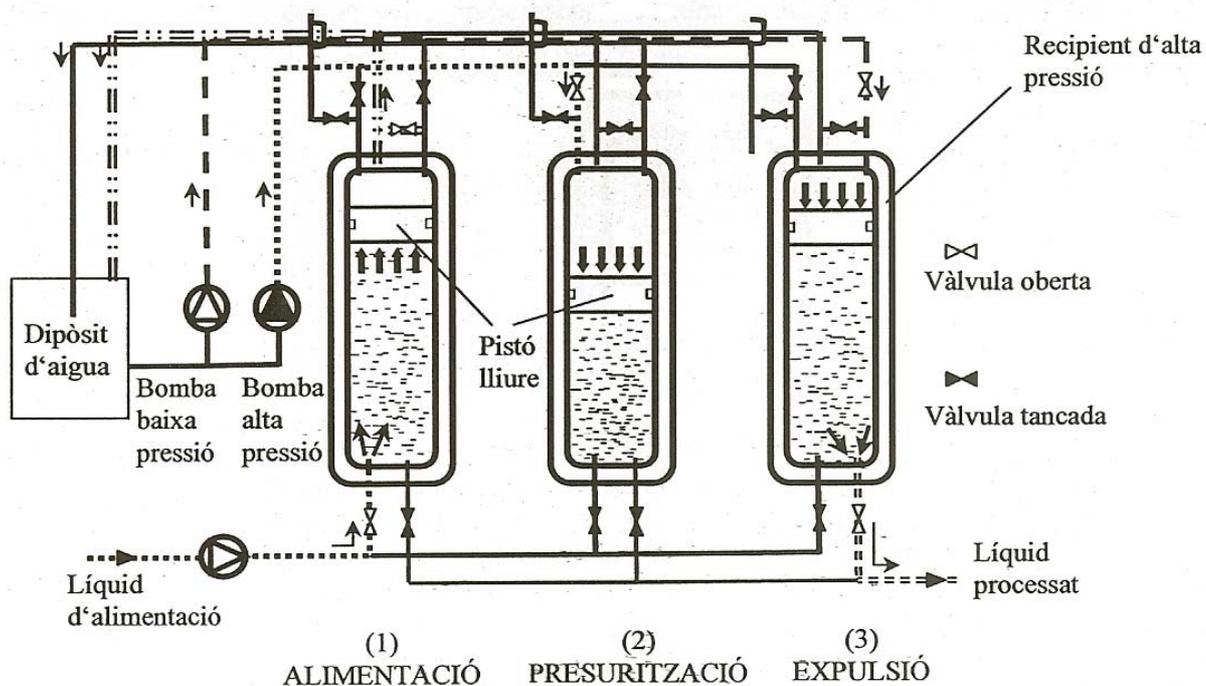


Fig.19- equipo multicámara para el tratamiento de líquidos

Se pueden asociar diversas cámaras en paralelo, con el mismo sistema central de generación de presión. Desfasando los ciclos a cada cilindro, se puede obtener un caudal prácticamente continuo: mientras unas cámaras se llenan otras tratan el producto y otras terceras descargan en la zona de envasado aséptico.

La elección del número de cámaras depende de las necesidades de producción, los ciclos de tiempo y el coste de las diferentes opciones. En la figura siguiente se muestra el esquema de un equipo con tres cámaras.

Como ejemplo, una industria japonesa de zumo de mandarina tiene 3 cámaras de 50 l cada una asociadas a una misma línea, consiguiendo una producción de 4 000 l/h, mientras que otra con una cámara de 210 l sólo obtiene 600 l/h.

2.1.2.7. Estimación del coste de tratamiento

Que la tecnología de AP sea aplicada ampliamente depende en gran parte de la viabilidad económica.

Para calcular el coste de tratamiento de AP se han de considerar los costes de amortización, mantenimiento y personal, y energía, todo relacionado con la producción diaria.

El coste de una cámara de AP representa la fracción más importante del equipo y viene determinada por la presión de trabajo y el volumen interno. Por

esto, es esencial minimizar estos dos parámetros, optimizando las condiciones del proceso, presión, temperatura y tiempo.

Además de estas condiciones, el coeficiente de llenado de la cámara tiene un papel importante en la viabilidad económica del proceso. Un coeficiente de llenado más grande significa un volumen interno menor para una producción determinada y, consecuentemente, un coste de inversión menor.

Finalmente, la configuración del equipo y el grado de automatización deben ser optimizados para minimizar el coste de inversión y de tratamiento.

El coste de inversión de un equipo a 600MPa es del orden de 0,6 a 3 millones de euros. El coste de tratamiento lógicamente disminuye a medida que aumenta la productividad. El tratamiento de 6 000 l/h a 600Mpa, con un factor de eficiencia de volumen del 50%, puede costar entre 5 y 25 céntimos de euro por litro, según sea su productividad. El coste estimado se basa en una amortización a 5 años, con un 15% de interés y incluye los costes de tratamiento y mantenimiento del equipo.

El coste de tratamiento varía considerablemente según la presión y el tiempo. El coste a 400MPa durante 10 min es parecido al coste a 1 000 MPa a 2 min. Por tanto, es necesario evaluar con cuidado la combinación de presión, tiempo y temperatura.

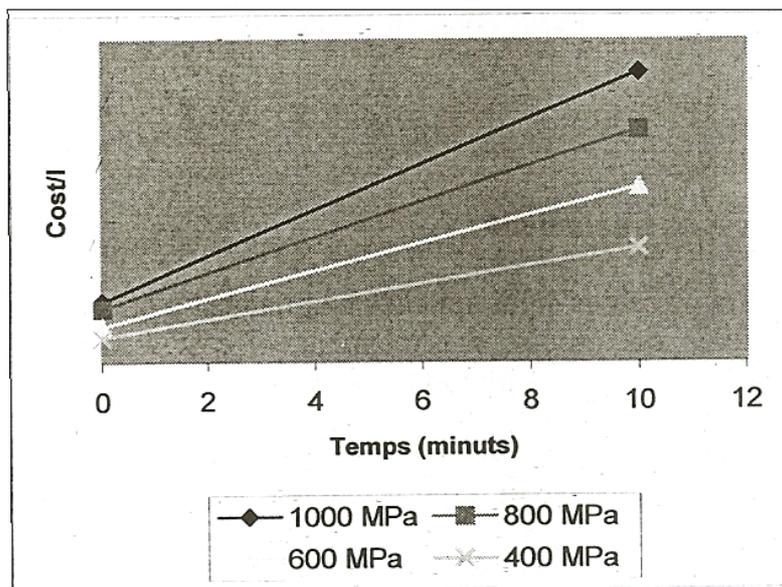


Fig.20- Evolución del coste según tiempo a dif. presiones

Además, el coste por litro de producto producido es menor en una unidad grande que en una pequeña compuesta por diversas cámaras pequeñas en paralelo. El motivo es simplemente que resulta más barato construir una cámara grande que diversas pequeñas.

Algunos estudios técnico-económicos muestran que el coste de tratamiento oscila entre 10 y 20 cms de e por kg, aproximadamente. También se han hecho estudios para comparar el coste de tratamiento de productos envasados y a granel, obteniendo las siguientes conclusiones:

-Para una presión determinada, el coste de tratamiento depende más de la cantidad producida que de las condiciones del proceso.

-El coste de tratamiento se reduce rápidamente cuando se prevé una capacidad más grande de producción.

-La presión de trabajo tiene un efecto significativo en el coste del tratamiento ya que de un lado, el coste de inversión incrementa significativamente y por otro lado, el incremento de la presión puede reducir el tiempo de tratamiento, a pesar de que los ciclos de compresión y descompresión se pueden incrementar.

-El coste de tratamiento de productos líquidos a granel es más económico (sobre un 25%) que el tratamiento de productos envasados, pero al primero hay que sumarle los costes de envasado aséptico.

-No existen diferencias significativas de costes de producción en un equipo con dos cámaras de 50 litros y una cámara de 100 l.

-Los costes también se pueden reducir minimizando el tiempo necesario para conseguir la presión y el llenado y expulsión del alimento, pero estos dos factores son menos significativos y de un orden de magnitud diferente al de los dos factores anteriores.

Otro estudio afirma que la diferencia de costes de tratamiento de productos envasados y a granel no es muy grande para caudales inferiores a 1 000 l/h. La solución de tratamiento de líquidos a granel permite economizar los costes del envasado aséptico. Más allá de los 1 000 l/h resulta más económico

decidirse por los sistemas semicontinuos, alimentando un sistema de envasado aséptico.

Los resultados obtenidos en diversos estudios permiten llegar a las conclusiones generales siguientes:

- El uso de equipos de tratamiento de productos líquidos envasados podría ser especialmente útil para industrias con una producción pequeña.
- Los resultados del coste de producción confirman que la introducción de esta tecnología para uso comercial no se debería frenar por razón de los costes. El coste de tratamiento debe considerarse juntamente con los beneficios que comporta este tratamiento.
- Con una producción de unos 2 000 m³ al año el coste de producción es del orden de 0,15 €/l

Los equipos industriales de AP ya son capaces de tratar cantidades elevadas de productos, cosa que hace posible su utilización en la industria de los alimentos. El precio del tratamiento es admisible en productos con un cierto valor añadido.

2.1.3. Efectos de las altas presiones sobre los microorganismos

2.1.3.1.1. Probables mecanismos de inactivación de células vegetativas

Las altas presiones inducen cambios de tipos morfológico, bioquímico y genético, que tienen lugar en la membrana y en la pared celular de los microorganismos. Además, provocan cambios en el funcionamiento de enzimas esenciales para el crecimiento y la reproducción de los microorganismos.

La mayoría de bacterias son capaces de crecer a presiones de hasta 20-30 MPa. Los microorganismos que son capaces de crecer a presiones tan altas como 40-50 MPa se denominan barófilos. Los barófilos difícilmente crecen o no lo hacen a presiones superiores a 30-40 MPa. Los microorganismos que pueden crecer en el intervalo de 0,1-50 MPa se denominan eurobáricos. Los barobúricos sobreviven a presiones de 50-200 MPa, pero no pueden crecer.

La cinética de inactivación de los tratamientos de AP es significativamente diferente a la del tratamiento térmico. En el caso del tratamiento térmico, el valor D se define como el tiempo necesario a una determinada temperatura para reducir el número de microorganismos en una unidad logarítmica (\log_{10} o 90%). En el caso de la irradiación, el valor D es la dosis requerida para reducir el número de un determinado microorganismos en una unidad logarítmica. Este concepto da por descontado que existe una relación lineal entre el tiempo de tratamiento y la reducción de microorganismos, y el valor D se calcula

como la inversa de la pendiente de esta línea. En cambio, en muchos casos las curvas de supervivencia de microorganismos después del tratamiento de AP no tienen una relación lineal y por eso los valores de D no se pueden calcular de la forma habitual. Este problema se supera utilizando ecuaciones exponenciales adecuadas para hacer corresponder los resultados de supervivencia en diferentes condiciones de proceso y utilizando los parámetros de la curva con tal de estimar el tiempo necesario para conseguir una reducción de los organismos supervivientes en diversos factores de 10.

2.1.3.1.2. Alteraciones morfológicas

La morfología celular se puede ver afectada por las altas presiones. Las vacuolas gaseosas se comprimen, se produce también un alargamiento de la célula, la separación de la membrana y pared celular, la contracción de la pared celular con formación de poros, formación de filamentos, modificaciones del núcleo y orgánulos intracelulares, la coagulación de las proteínas citoplasmáticas y la liberación de los constituyentes intracelulares hacia el exterior de la célula.

2.1.3.1.3. Alteraciones de los mecanismos genéticos

La estructura helicoidal del DNA es en gran parte el resultado de enlaces de hidrógeno. Como que la presión favorece los enlaces de hidrógeno, las moléculas de DNA son más estables a la presión que las proteínas, mientras que temperaturas elevadas provocan una desnaturalización de las moléculas

de DNA. No se observa desnaturalización de DNA cuando es sometido a AP. En cambio, la transcripción y replicación del DNA se detiene cuando se somete a AP, a causa de la inactivación de enzimas clave para a este proceso.

La transcripción del ARN y la traducción en proteínas son sensibles a la presión. Ese hecho explica, en parte, la ausencia de crecimiento microbiano bajo efecto de la AP.

2.1.3.1.4. Alteraciones de la membrana celular

Las altas presiones desnaturalizan las proteínas y reducen el tamaño de los fosfolípidos de la membrana celular. La desnaturalización de las proteínas inhibe la captación de aminoácidos esenciales para el crecimiento de la célula. La AP aumenta la permeabilidad de la membrana celular y los contenidos de la célula se liberan fuera de esta, rompiendo el funcionamiento de la célula. Si la presión aplicada es relativamente baja, la célula recupera la permeabilidad original. La destrucción de la pared es irreversible cuando la presión aplicada es relativamente alta y provoca la inactivación celular.

La temperatura de fusión de los lípidos aumenta en más de 10° C de forma irreversible a 100 MPa. Esto implica que los lípidos puedan cristalizar bajo presión.

Los cambios producidos en la permeabilidad de la membrana celular debidos a la cristalización de los fosfolípidos pueden ser también una explicación a la inactivación de microorganismos.

2.1.3.1.5. Alteración de la actividad enzimática

Diversos sistemas enzimáticos de las células microbianas son inhibidos o activados mediante la aplicación de presión. La inactivación de enzimas tiene lugar como resultado de la alteración por la presión de las estructuras intramolecular o cambios conformacionales en puntos activos. La inactivación de algunos enzimas presurizados a 100-300 MPa es irreversible. La reactivación después de la descompresión depende del grado de distorsión de la molécula. La posibilidad de reactivación disminuye con un aumento de la presión más allá de 300 MPa.

2.1.3.2. Probables mecanismos de inactivación de esporas

Una de las operaciones más difíciles en la conservación de alimentos es la inactivación de esporas de los microorganismos. Las formas esporuladas son más resistentes a la presión que las células vegetativas, las cuales se inactivan a presiones moderadas.

La inactivación de esporas de los microorganismos parece que actúa mediante dos fases. En una primera etapa a baja presión (del orden de 50-200 MPa) se consigue la germinación de la espora. Posteriormente, si la presión y/o

temperatura es suficientemente alta, se puede inactivar la espora germinada, ahora sensible a la presión. Las células vegetativas provenientes de esporas germinadas son muy sensibles a la presión y/o calor. A pesar de todo, se encuentra una proporción significativa de esporas iniciales que pueden permanecer interrelacionados (tipos de espora, presión, temperatura, pH, presencia de nutrientes...). La germinación de esporas se caracteriza por

- Un aumento en la sensibilidad al calor y a la radiación, a la actividad respiratoria, a la turbidez y a la coloración de la suspensión de esporas
- La pérdida de refractibilidad
- La pérdida de peso
- La liberación del calcio al medio circundante
- Un descenso en el volumen molecular
- Cambios estructurales y químicos

El efecto letal de la AP sobre las células vegetativas es provocado por la precipitación de proteínas. Mientras que en las esporas las proteínas se encuentran protegidas por el ácido dipicolínico, la cual cosa impide la solvatación, la ionización excesiva y precipitación consiguiente. Por esta razón, la aplicación de AP únicamente a veces puede no ser suficiente para inactivar estas esporas.

La germinación inducida por presión viene provocada probablemente por la ionización de constituyentes de la espora. La utilización de la AP para la germinación de formas esporuladas presenta diversas ventajas en frente de

otras formas de germinación de microorganismos. Destaca principalmente el hecho de que no necesita ninguna sustancia extraña para conseguir la germinación, ya que esta se produce en un breve periodo de tiempo, cosa que facilita el diseño del tratamiento. En la germinación mediante AP existen algunas variables, como el tipo de microorganismos y sus características fisiológicas y morfológicas, la presión que se ha de utilizar, el tiempo de presurización o la temperatura mantenida durante la presurización, las cuales pueden modificar de manera sustancial el grado germinación conseguida y, en consecuencia, el grado de inactivación alcanzado.

2.1.3.3. Factores que afectan en la destrucción de células vegetativas

El abasto de la destrucción depende de un número de factores que influyen, entre las cuales hay la magnitud y duración de la presión, la especie microbiológica, la temperatura de proceso y el sustrato. Estos factores se han de tener en cuenta a la hora de poder garantizar la seguridad microbiológica y la calidad del alimento.

2.1.3.3.1. Magnitud y duración de la presión

En la destrucción de microorganismos, generalmente se ha encontrado que aumentando la presión, se incrementa el efecto letal sobre los microorganismos. En cambio, un aumento de la duración del tratamiento de AP no incrementa necesariamente el efecto letal. Existen cinéticas de inactivación de primer orden (relación lineal entre $\log N/N_0$ y el tiempo) para la

inactivación de algunas células vegetativas por presión. Pero otros estudios han revelado que se pueden producir desviaciones de la cinética de primer orden, que se transforma en una de segundo orden (relación no lineal entre $\log N/N_0$ y el tiempo)

2.1.3.3.2. Presurización por ciclos

La destrucción conseguida mediante tratamientos cíclicos, por comparación al proceso continuo en una sola etapa, se puede explicar como consecuencia del estrés causado, tanto en la membrana como en los orgánulos internos, por los repetidos procesos de presurización y despresurización. Los efectos afectan la permeabilidad, con cambios al nivel de osmosis, con cristalización de fosfolípidos y desnaturalización de proteínas. La presurización por ciclos también puede ser preferible porque los componentes del alimento pueden resultar menos alterados

2.1.3.3.3. Variación de especies y sensibilidad a la presión

En general, las células en fase exponencial de crecimiento son más sensibles a la presión que las que se encuentran en fase estacionaria. Las células Gram positivas son más resistentes que las Gram negativas, como sucede con otros métodos de procesamiento de alimentos como la γ -radiación. Se cree que este fenómeno es debido al hecho que la estructura de la membrana celular de las bacterias Gram negativas es más compleja, cosa que les hace más susceptibles a los cambios inducidos por el tratamiento de AP. En general,

hongos y levaduras se presentan como los microorganismos menos barorresistentes.

La tabla siguiente resume la información disponible en la inactivación de patógenos vegetativos sometidos a diversas condiciones de tratamiento. *Vibro parahaemolyticus*, un microorganismo Gram negativo particularmente asociado al pescado y a sus derivados, es uno de los patógenos más barosensitivos, con presiones inferiores a 200 MPa durante 20 min para alcanzar como mínimo una reducción de 10^6 unidades logarítmicas.

Otros patógenos gram negativos, como *Y. enterocolitica*, *C. jejuni* y *S. typhimurium*, requieren presiones de más de 300 MPa para alcanzar una reducción similar en 10-20 min. Los patógenos Gram positivos como *L. monocytogenes* y *St. aureus* tienden a necesitar presiones más altas por la inactivación de 10^6 en 30 min o un tiempo superior a presiones menores para asumir el mismo grado de inactivación. Uno de los patógenos más resistentes es *E. coli*.

Microorganismo	Sustrato	Condiciones	Nivel reducción	Comentarios
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-Tampón fosfato (100 mM) + 3% NaCl (pH 7)	-170 Mpa, 30 min, 23° C	10 ⁶	D = 5,1 min
	-Jugo almejas	-170 Mpa, 10 min, 23° C	>10 ⁵	D = 4,0 min
	-Tampón fosfato (2mM) (pH 7)	-300 Mpa, 20 min, 20° C -200 Mpa, 20 min, -20° C	>10 ⁸ >10 ⁸	
	-Tampón fosfato (2mM) (pH 7)			
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-Cerdo	- 300 Mpa, 10 min, 25° C	10 ⁶	Utilización de medio selectivo
	-Tampón fosfato salino (10 M) (pH 7)	- 325 Mpa, 10 min, 20° C	10 ⁶	
<i>Campylobacter jejuni</i>	Cerdo	300 Mpa, 10 min, 25° C	10 ⁶	Utilización de medio selectivo
<i>Salmonella typhimurium</i>	-Cerdo	-300 Mpa, 10 min, 25° C	10 ⁶	Utilización de medio selectivo D = 7,4 min
	-Tampón fosfato (63 mM) + 0,85% NaCl (pH 7)	-340 Mpa, 10 min, 23° C	<10 ²	
	-Alimento infantil de pollo	-340 Mpa, 10 min, 23° C -378 Mpa, 10 min, 20° C	<10 ²	D = 7,63 min
	-Tampón fosfato salino (10 M) (pH 7)		10 ⁶	
<i>Salmonella senftenberg 775 W</i>	-Tampón fosfato (63 mM) + 0,85% NaCl (pH 7)	-340 Mpa, 10 min, 23° C	10 ⁴	D = 4,2 min
	-Alimento infantil de pollo	-340 Mpa, 10 min, 23° C	<10 ³	D = 7,13
<i>Salmonella enteridis</i>	Tampón fosfato (10 mM) (pH 7)	500 Mpa, 15 min, 20° C	10 ⁶	
<i>Salmonella bareilly</i>	-Tampón fosfato (2 mM) (pH 7)	-300 Mpa, 20 min, 20° C	>10 ⁸	
	-Tampón fosfato (2 mM) (pH 7)	-200 Mpa, 20 min, -20° C	>10 ⁸	
<i>Escherichia coli 0157:H7</i>	-Tampón fosfato salino (10 M) (pH 7)	-700 Mpa, 13 min, 20° C	10 ⁶	Sin inactivación superior a la misma presión cuando se trata durante 30 min
	-Leche UHT	-800 Mpa, 10 min, 20° C	<10 ²	
	-Carne de ave	-700 Mpa, 10 min, 20° C	10 ⁵	
<i>Listeria monocytogenes</i>	-Tampón fosfato salino (100 mM) (pH 7)	-340 Mpa, 20 min, 23° C	>10 ⁶	D = 2,9 min
	-Leche UHT	-340 Mpa, 80 min, 23° C	10 ⁶	D = 13,2 min
	-Leche cruda	-340 Mpa, 60 min, 23° C -450 Mpa, 15 min, 20° C	10 ⁶ 10 ⁶	D = 9,3 min
	-Tampón fosfato salino (10 mM) (pH 7)	-375 Mpa, 15 min, 20° C	10 ⁵	Utilización de medio selectivo
	-Tampón fosfato salino (10 mM) (pH 7)	-375 Mpa, 30 min, 20° C	10 ⁴	
	-Suero albúmina de bovino		<10 ²	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-Tampón fosfato (2mM) (pH 7)	-400 Mpa, 20 min, 20° C	>10 ⁸
-Carne de cerdo		-600 Mpa, 10 min, 25° C	10 ⁶	
-Carne de ave		-600 Mpa, 30 min, 20° C -600 Mpa, 30 min, 20° C	10 ⁶	
			10 ⁴	
-Leche UHT			10 ²	

Tabla.4- Sensibilidad a la AP de patógenos vegetativos (Ledward, D.A.)

2.1.3.3.4. Efecto de la temperatura

La temperatura aplicada durante la presurización puede tener un efecto muy significativo en la inactivación celular. Estudios realizados demuestran que las bacterias son menos sensibles a la presurización entre 20 y 30° C pero se vuelven extremadamente sensibles por encima de los 35° C a causa de los cambios de fase de los lípidos de membrana.

2.1.3.3.5. Efecto de la composición del medio

La composición química del medio puede afectar significativamente la respuesta de los microorganismos a la presión. Determinados constituyentes del alimento, como proteínas o carbohidratos, pueden ejercer un efecto baroprotector en la inactivación microbiana. Se cree que un medio enriquecido es más protector porque los aminoácidos esenciales y las vitaminas son accesibles a las células dañadas.

A la vista de los estudios realizados, parece que el contenido en lípidos del alimento no permiten prevenir la inactivación microbiana. Aun así, los posibles efectos baroprotectores de los lípidos todavía no han sido determinados con precisión.

Los resultados de algunas investigaciones apuntan que la baroprotección que pueden ofrecer algunos alimentos no viene determinada por un componente específico, sino por la interacción de todos ellos formando una matriz compleja

Estudios realizados en zumos de fresas han demostrado que el contenido en azúcares, expresado en °Brix, tiene un importante efecto baroprotector. La inactivación de *S. cerevisiae* inoculada a la mermelada de fresa (pH 3,3-3,4) fue menor y requirió un nivel de presión superior cuando el contenido en azúcar aumentó de 20 a 50 °Brix. Los mecanismos osmóticos que explican este fenómeno son poco conocidos. Algunas levaduras, como la *Candida parapsilosis* y la *Candida tropicalis*, son especialmente resistentes a la presión en alimentos ricos en azúcares. Su inactivación requiere un nivel de presión más alto o un tratamiento combinado de presión-temperatura (35-54° C). Un contenido bajo en azúcar contribuye a la estabilidad microbiológica, juntamente con la presurización, la conservación en fresco y el pH ácido de los productos.

La presencia de sales puede tener un efecto protector sobre los microorganismos. En un estudio con células de *S. braenderup*, *S. typhimurium*, *s. marcenses*, *S. senftenberg* y *E. coli* se observó que, cuando la concentración de NaCl se aumentó de 0,5% a 1,8% y 3%, el tratamiento a 600 MPa durante 60 s resultaba menos efectivo en inactivar un inóculo de 10^7 células/ml.

Ha sido demostrado que en un sustrato ácido las bacterias son más sensibles al tratamiento de AP. En particular, se ha observado que una cepa de *Listeria monocytogenes* en medio de cultivo se inactiva (7D) en 14 min a 500 MPa a pH 7, en 2 min a pH 6 y en menos de 1 min a pH 5,5 y 4,5. Por tanto, para

inactivar cepas de *L. monocytogenes* en un medio de cultivo ácido se necesitan presiones menores.

También se han observado resultados análogos con otras bacterias lácticas. Una cepa de *Lactobacillus casei* sub *casei* homofermentativas, inoculada en un medio de cultivo y tratada a 400 MPa, resultó más sensible a la presión cuando el pH del sustrato era más bajo. De hecho, el tiempo de reducción decimal (D) resultó ser de 0,470 a pH 5, 0,35 a pH 4,5 y 0,318 a pH 3,5.

Para el *Sacharomyces cerevisiae* la influencia del pH es menos evidente, todo y que también se encuentra una inactivación superior en un sustrato a pH 3,5 que a pH 5.

Se ha observado un comportamiento bifásico para la *Salmonella typhimurium* y la *Salmonella enteritidis* (10^7 ufc/ml) en medio de cultivo a pH 7 después de un tratamiento a 400 MPa: una sensible reducción inicial en 10 s y una lenta inactivación en los 180 s restantes.

Después de un tratamiento de 60 s, las mismas células obtuvieron una inactivación superior cuando el pH del medio fue reducido a 4,5, con ácido cítrico.

Es muy remarcable el hecho que, después de un tratamiento a presiones sub-letales (300 MPa), la cepas resultaron más resistentes a pH 4,5 que a pH 4,7.

La explicación al comportamiento diferente que se ha evidenciado entre las Gram positivas (*Listeria*, bacterias lácticas) y las Gram negativas (salmonelas y otras enterobacterias) se puede encontrar en la composición diferente de sus paredes celulares.

Por lo que hace a la actividad de agua, en todos los microorganismos estudiados se ha observado una eficacia menor del tratamiento con la disminución de la a_w ; también resulta determinante el tipo de soluto utilizado para su reducción.

Este efecto protector fue observado sobre algunas células de *Listeria monocytogenes* después de un tratamiento a 600 MPa durante 8 min: con $a_w = 0,96$ se obtuvieron reducciones decimales entre 5 y 7, mientras que con $a_w = 0,92$ se obtuvieron como mucho 4; los diversos valores de inactivación están relacionados con los diferentes solutos añadidos para obtener la reducción del agua libre.

Los resultados observados son más remarcables aún si se considera que a la misma presión, en medio de cultivo con $a_w = 0,99$, la misma cepa de *Listeria* fue completamente inactivada ($\cong 7D$) en 6 min.

Se pudieron evidenciar que el azúcar ejerce un efecto protector hacia la *Listeria monocytogenes* mayor del que se produce con NaCl y glicerol. A este efecto, a igualdad de tratamiento, es tanto o más marcada como más elevada sea la concentración de azúcar, y por tanto, menor sea la a_w .

De hecho, la cepa de *Listeria monocytogenes* en un medio de cultivo con un contenido de entre el 35 y el 45% de azúcar, con un tratamiento a 500 MPa durante 15 min, fue débilmente inactivada (3 y 1 reducciones decimales, respectivamente), mientras que fue casi completamente después de un tratamiento de 9 min en un medio que contenía el 25% de azúcar (6,5 D).

Resultados análogos, que confirman esta marcada dependencia entre el efecto inactivante del tratamiento de AP y la actividad de agua del sustrato, se encontraron también con salmonelas, enterobacterias, bacterias lácticas, levaduras y hongos tanto en medios de cultivo como en productos alimentarios.

En a_w menores de 0,90 se demuestra la barotolerancia de los microorganismos. Se ha observado que la aplicación de 500 MPa durante 1 min inactiva los microorganismos inoculados a néctar de albaricoque. Cuando a este néctar se le añadió sacarosa para disminuir la a_w hasta 0,86, fue necesario incrementar la presión hasta 700 MPa para conseguir la misma inactivación.

El estudio realizado sobre dos cepas de *S. cerevisiae* en extracto de malta con el 15, el 30 y el 50% de azúcar demostró también que el aumento del azúcar incrementa la resistencia de las células al tratamiento.

2.1.3.3.6. Efecto de la densidad de la población inicial

En los experimentos que evalúan resistencia al calor de los microorganismos hay que tener en cuenta el efecto de la densidad de la población inicial en la medida del grado de destrucción asumido, por causa de la agrupación de las células y la protección producida por el contacto célula a célula.

2.1.3.4. Factores que afectan a la destrucción de esporas

2.1.3.4.1. Resistencia a la presión de diferentes tipos de esporas

Existen diferencias marcadas en la resistencia a la AP entre las esporas bacterianas y las esporas de hongos y levaduras. Además, la resistencia al tratamiento es muy variable según la especie y la cepa tratada, como también el tipo de sustrato en que se encuentre.

Mientras que las esporas de hongos y levaduras se pueden inactivar fácilmente a presiones de 300 o 400 MPa a temperatura ambiente, las esporas bacterianas son las formas más resistentes al tratamiento hiperbárico y pueden resistir presiones superiores a 1 000 MPa.

A causa de la gran resistencia que presentan las esporas bacterianas, la aplicación de presión es insuficiente para su inactivación y requieren tratamientos combinados de presión-temperatura.

Las esporas fúngicas no muestran una resistencia elevada a las altas presiones: *Aspergillus awamori* fue inactivado con un tratamiento de 10 min a 300 MPa en un zumo de mandarina con 10° Brix. Al mismo tipo de producto, esporas *Aspergillus niger* fueron inactivadas con un tratamiento de 300 MPa durante 5 min, mientras que se obtuvieron 5-6 reducciones decimales para esporas de *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum* y *Penicillium chrysogenum* con un tratamiento de 1 min a 400 MPa en néctar de albaricoque.

Las ascósporas de *Saccharomyces cerevisiae* muestran una resistencia a la AP notablemente superior a la de las células vegetativas. De hecho, para obtener la inactivación (6D) en un medio de cultivo de células vegetativas son suficientes 400 MPa durante 15 s, mientras que se necesitan 4 min para las ascósporas. Las esporas de *Clostridium botulinum* y *Bacillus subtilis* se encuentran entre las más resistentes. La resistencia a la AP es un poco inferior en las esporas del género *Bacillus* que en las pertenecientes al género *Clostridium*.

2.1.3.4.2. Influencia de la temperatura en la inactivación de esporas

La tecnología de altas presiones es efectiva para reducir el recuento de esporas siempre que este combinada con temperatura. Presión y temperatura trabajan sinérgicamente sobre la inactivación: para obtener el mismo resultado, la disminución de uno de los dos parámetros requiere el aumento del otro. De hecho, no se pueden obtener inactivaciones significativas algunas

esporas bacterianas (como *Bacillus subtilis* o *Clostridium sporogenes*) aplicándole únicamente presión.

Se ha demostrado que un pretratamiento térmico sensibiliza considerablemente las esporas bacterianas al tratamiento sucesivo con presión, como también que esporas sometidas a presión son más sensibles al tratamiento térmico posterior. Temperaturas próximas a 0° C y presiones inferiores a 1 000 MPa no tienen efecto germinativo ni letal sobre las esporas, pero tan buen punto la temperatura se eleva, incluso aplicando presiones tan bajas como 100 MPa, se producen una germinación de las esporas y la reducción posterior de la cuenta microbiana.

Para esporas de *Bacillus subtilis* se obtuvo reducciones de 5 unidades logarítmicas en tampón fosfato aplicando tratamientos de 600 MPa durante 40 min, precalentando el producto a 60° C) y de 900 MPa durante 15 min, precalentando a 45° C.

Para *Bacillus spp.* tratado a presiones entre 100 y 800 Mpa, la inactivación es mayor en la región de presiones de 100-300 MPa. La inactivación aumenta cuando la temperatura se incrementa a 70° C, mientras que la presión se mantiene en el intervalo 100-300 MPa.

De otros estudios con esporas bacterianas de *Bacillus stearothermophilus* corroboran también este efecto sinérgico entre presiones y temperatura para asumir la inactivación. Se comprobó que las esporas de este microorganismo

en una solución tampón a pH 7,0 y 90° C sometidas a un tratamiento de presiones bajas (200 MPa) durante 30 min sufrieron una inactivación de $(1/3)*10^6$. A 80° C la misma inactivación se conseguía después de 30 min a 350 MPa, mientras que a 70° C se consiguió muy poca inactivación incluso después de 45 min a 400 MPa.

La esterilización de alimentos y bebidas mediante AP y temperatura moderada (70-90° C) es bastante interesante en vistas de incrementar la calidad sensorial de productos termosensibles (té, café, extractos aromáticos, diversos vegetales y productos cárnicos, platos preparados...). Pero la aceptación de este producto proceso no se producirá hasta que la seguridad microbiológica no esté claramente demostrada.

2.1.3.4.3. Presurización por ciclos

Un estudio realizado por Hayawaka (1994) sugiere que en la inactivación de esporas la presurización por ciclos y oscilante es más efectiva que la continua. Observaron que 6 ciclos de 5 min/ciclo de presurización oscilante a 60 MPa y 60° C disminuye la población de esporas de *Bacillus stearothermophilus* desde 10^6 a 10^2 /ml. Con 10° C más se consigue una inactivación de 10^0 recuentos/ml.

El mecanismo de inactivación de esporas debido a la presurización oscilante no es conocido de forma clara. Es posible que el cambio en las propiedades del agua pueda tener un efecto en la destrucción de esporas por presurización

oscilante, o los cambios físicos en la pared de las esporas al aumentar la temperatura o al debilitamiento de la fuerza física de éstas.

2.1.3.4.4. Efecto de la composición del medio

Tal y como sucede con las células vegetativas, los alimentos con baja actividad de agua requieren un aumento de las condiciones del tratamiento para inactivar esporas.

Una disminución del pH del sustrato aumenta el efecto inactivante de la presión sobre las esporas.

2.1.3.4.5. Efectos de la alta presión sobre virus

Algunos virus encapsulados son inactivados a 300 MPa y 25° C durante 10 min. A 400 MPa, el poder de inactivación se reduce en 7 o 4 ciclos logarítmicos. La presión daña la cápsula viral y previene la adhesión de las partículas víricas en las células, lo que sugiere que este método podría ser factible para eliminar virus.

2.1.4. Efectos de las altas presiones sobre los componentes de los alimentos

Algunos cambios originados por la A son similares a los producidos por el calor, otros son significativamente diferentes.

Los cambios con la AP siguen el principio de la isostática, cosa que hace que sean prácticamente instantáneos y uniformes siendo independiente del volumen y la geometría de la muestra.

El comportamiento de los sistemas bioquímicos bajo presión sigue el principio de Le Chatelier, favoreciendo cambios de volumen negativos. Los cambios de volumen son los siguientes:

-enlaces covalentes: la variación es de -10 ml/mol en la formación de enlaces y presenta valores cercanos a 0 en los intercambios entre enlaces. La estructura covalente no se altera a presiones inferiores a 1000-2000 MPa

-interacciones electrostáticas: la variación es de -10 ml/mol en la hidratación de un grupo cargado, y presenta valores positivos de 10-20 ml/mol en la formación de un enlace electrostático.

-interacciones hidrofóbicas: aumenta el volumen de 10-20 ml/ml cuando grupos CH_2 se incorporan al contacto hidrofóbico. Las interacciones

hidrofóbicas se rompen por el tratamiento de AP en presiones de unos 100 MPa.

-puentes de hidrógeno: son prácticamente insensibles a la presión según Mozhaev y Gross y Jaenicke (1994). Para Tausher, Smeller y otros (1995) la formación de estos puentes va asociada a una pequeña contracción de volumen debida a la disminución de la distancia interatómica.

2.1.4.1. Efectos sobre el agua

El descenso del volumen de agua a 100 MPa es próximo al 4% y a 600 MPa es de 15% (a 22° C).

La disociación iónica del agua se ve aumentada por la presión. Este descenso de pH puede provocar desnaturalización de proteínas y la inactivación microbiana. Los efectos de la disociación son debidos a la electrostricción: la presión causa la separación de las cargas eléctricas porque la capa externa organiza las moléculas a su alrededor, con el descenso consecuente del volumen total.

La compresión adiabática del agua comporta un incremento moderado de la temperatura (2-3° C por cada 100 MPa) que depende tanto de la temperatura inicial como del grado de compresión.

Las transiciones de fase del agua, especialmente fusión-cristalización, se ven influenciadas por la presión. El diagrama de fase indica que el agua permanece en estado líquido a -22° C a una presión de hasta 210 MPa. Así,

es posible descongelar alimentos a temperaturas bajo cero, conservar alimentos a temperaturas entre 0 y -20° C sin que se congelen, obtener una congelación ultrarrápida cuando primero se presuriza la muestra biológica a 200 MPa y después se enfría a -20° C y posteriormente se despresuriza rápidamente.

2.1.4.1. Efectos sobre los lípidos

La temperatura de fusión de los lípidos (triglicéridos) se incrementa, de forma irreversible, en más de 10° C por cada 100 MPa. Por esto, los lípidos en estado líquido pueden cristalizar a temperatura ambiente bajo presión.

El tratamiento de AP puede producir un aumento de la oxidación de los lípidos insaturados de los alimentos. Se cree que puede estar relacionado con la desnaturalización de las proteínas causada por presión, ya que quedan libres iones metálicos que catalizan la oxidación lipídica. Además, muestras con más agua experimentan mucha más oxidación que las que tienen contenido bajo.

2.1.4.2. Efectos sobre los hidratos de carbono

Todos los estudios coinciden en afirmar que los azúcares simples no se ven afectados por este tratamiento.

Las reacciones de condensación de Maillard son inhibidas con la aplicación de AP en el rango de 50-200 MPa (Sangronis). Como consecuencia, el desarrollo del sabor y el color típicos de esta reacción no se produce.

Por lo que hace al almidón, se conoce que el tratamiento con presión modifica la estructura del grano y afecta su susceptibilidad al ataque de la amilasa. Los cambios dependen de la cantidad de agua presente. El almidón se puede gelatinizar con AP o calor. La presión a la que gelatiniza depende de su procedencia. Se puede estimular aumentando la temperatura.

2.1.4.3. Efectos sobre las proteínas

Los primeros estudios realizados por Bidgam sobre la coagulación de la leche indicaron que la presión induce a la desnaturalización. La magnitud de la desnaturalización depende de la hidrofobicidad o hidrofilidad.

Según el principio de Le Chatelier, la deformación de la estructura nativa de la proteína se puede producir, teóricamente, por efecto de la presión ya que los enlaces implicados en esta disposición tridimensional producen una variación de volumen positiva.

La aplicación de AP en un sistema en que se encuentre una proteína implica el desplazamiento del equilibrio entre la forma nativa (N) a las formas anómalas (U) o unfolded, las desnaturalizadas. Según la presión ejercida, el proceso de deformación, rotura y formación continua de nuevas interacciones condicionantes de la disposición espacial afecta de diferente forma a la estructura proteica. Son suficientes presiones moderadamente reducidas (hasta 200 MPa) para obtener modificaciones de la estructura cuaternaria, presiones más elevadas, cercanas a 500 MPa, provocan variaciones de la estructura terciaria y presiones superiores a 800 MPa modifican la estructura secundaria.

Una vez que el sistema se despresuriza, las proteínas tienden a reorganizarse en una estructura que ya no depende del efecto de la presión. La posibilidad que la estructura en mayor concentración después del tratamiento sea la misma que la inicial también está muy relacionada con el nivel de presión aplicada.

El proceso de formación de geles es la consecuencia macromolecular de la desnaturalización. En general se pueden considerar dos tipos, según Ledward.

El primer tipo se forma partiendo de proteínas globulares. La estructura del gel tiene mucho en común con la coagulación de coloides y emulsiones. Hay dos posibilidades: la desnaturalización es seguida por la agregación o viceversa.

El segundo tipo es típico de la gelatina. La formación es similar a la que se produce en polímeros sintéticos. El gel se genera a partir de proteínas desestructuradas.

2.1.4.4. Efectos sobre los enzimas

Las altas presiones pueden modificar tanto las estructuras de los enzimas y su actividad como el sustrato que, transformado puede influir de manera negativa o positiva sobre la actividad de este. En algunos equipos, se pueden llevar a cabo y controlar reacciones enzimáticas y mejorar notablemente el rendimiento.

Algunas de las modificaciones inducidas por la presión son las siguientes:

-sobre el sustrato:

- La modificación estructural inducida por la presión sobre el sustrato produce una accesibilidad diferente a los enlaces implicados, con la consiguiente variación de la actividad y selectividad
- La estabilización o desestabilización de los enlaces modificados y la variación de la actividad.

-sobre el complejo enzima-sustrato:

- La estabilización o desestabilización de los complejos activados enzima-sustrato según su variación de volumen específica y su diferente solvatación
- La acción sobre el complejo enzima-producto y, por tanto, sobre la disponibilidad del enzima libre

-sobre el enzima:

- La presión puede modificar la estructura y variar las posibles interacciones con el sustrato, y, por tanto, su afinidad
- La variación en la actividad y la interacción con eventuales cofactores

-sobre el producto:

- La modificación de la concentración de los productos de reacción con relación a la variación de volumen dada al sistema por su presencia, con el desplazamiento consecuente del equilibrio de la reacción

Considerando individualmente estos factores, podemos presuponer el equilibrio de una reacción enzimática sometida a presión hacia el sustrato (inhibición) o hacia el producto (activación). Por este motivo es fundamental en la determinación del efecto final tener en cuenta la interacción de todos estos factores y de otros que generalmente no se toman en consideración.

Los efectos sobre los enzimas pueden ser de dos clases. Presiones comparativamente diferentes pueden activar enzimas y presiones mucho

mayores generalmente inducen la inactivación enzimática. Algunos autores distinguen entre 4 grupos de enzimas, basándose en la pérdida y recuperación de la actividad por causa de la presión: 1) inactivados completamente e irreversiblemente, 2) completamente reversiblemente, 3) incompleta e irreversiblemente y 4) incompleta y reversiblemente.

Además de los cambios de conformación, la activación de los enzimas se puede ver incrementada por la descompartimentación. La destrucción de los compartimentos provoca la liberación de los enzimas y produce el contacto con el sustrato. Al mismo tiempo, la reacción enzimática puede verse acelerada o desacelerada. Por lo que hace a la presión de inactivación, parece que hay un mínimo de presión por debajo del cual no se produce la inactivación del enzima. Cuando excede este valor, la inactivación del enzima incrementa hasta que se completa a una presión determinada. Este rango de inactivación de la presión varía enormemente según el tipo de enzima, del pH, de la composición del medio, la temperatura, etc.

Se ha sugerido que la eficiencia de la AP para la inactivación de enzimas se puede ver incrementada al aplicar ciclos de presión.

Si, por un lado, la posibilidad de utilizar las AP como principal tratamiento estabilizante está relacionada con la destrucción total o parcial de la flora microbiana presente, por otro lado esta vinculada al bloqueo total, o como mínimo, a una reducción drástica de las actividades responsables del deterioro de las características organolépticas y nutricionales. Esta inhibición resulta

más problemática de lo que en principio se había pensado. Además, en algunos casos, tratamientos de AP a baja temperatura producen el efecto contrario y favorecen la actividad enzimática, cosa que modifica las características organolépticas de los productos (Rovere).

2.1.4.5. Efectos sobre las vitaminas

En general, se afirma que las vitaminas no se ven afectadas por el tratamiento de AP, a pesar de que es difícil confirmar este dato.

Se ha observado, por ejemplo, que el contenido de vitamina C en los zumos de cítricos no se ve afectado (Díaz)

Sierra (2000) realizó un trabajo sobre el efecto de las AP en el contenido de las vitaminas B₁ y B₆ de la leche de vaca. Aplicó un tratamiento de 400 MPa durante 30 min a temperatura ambiente. Los resultados mostraron que no se producen cambios significativos en el contenido de las vitaminas (100% de retención),

2.1.4.6. Efectos sobre la calidad sensorial del alimento

Una de las ventajas es conseguir la retención de sabores, olores y colores, a diferencia de lo que sucede con los métodos térmicos. La calidad sensorial de los productos comercializados en Japón es muy superior a los obtenidos por los métodos térmicos.

La no alteración del sabor del alimento puede ser causada por el hecho que la AP no ataca los enlaces covalentes, que son los típicos del sabor. Los cambios sensoriales típicos de la AP son modificaciones de la textura y esto también es ocasionado por cambios reológicos, que afectan a las propiedades funcionales de los alimentos.

2.1.5. Aplicación de la AP sobre bebidas alcohólicas

Los primeros estudios relativos a la aplicación de las altas presiones en bebidas alcohólicas se realizaron con sake (vino de arroz) en Japón. Se encontró que el tratamiento de altas presiones inactivaba completamente las levaduras y las bacterias acidolácticas y no afectaba a las características organolépticas del producto (Castellari).

Diversos estudios han demostrado que las altas presiones pueden ser útiles para conseguir la estabilización de vinos de uva.

La AP se ha propuesto también como método de estabilización de bebidas alcohólicas carbonatadas como la cerveza, prolongando su vida útil sin alterar las características organolépticas del producto sin tratar y sin necesidad de realizar tratamientos térmicos o de filtración.

El tratamiento de altas presiones no afecta a los atributos principales de la cerveza. El tratamiento a 600 MPa y 5 minutos proporciona un producto

microbiológicamente estable comparable al que se obtiene de forma térmica. Además, a diferencia de éste, las cervezas tratadas por AP mantienen el color y la turbidez de las muestras sin tratar.

2.1.6. Aplicación de las altas presiones con sistemas combinados

La aplicación de la AP combinada con otros tratamientos como la irradiación, gases comprimidos, ultrasonidos, campos eléctricos pulsantes de alta intensidad de campo, bacteriocinas o aditivos puede hacer más efectiva la inactivación de células vegetativas y esporas, y permitir el uso de presiones, temperaturas y tiempos más bajos.

2.2. TECNOLOGÍA DE MEMBRANAS

2.2. Tecnología de membranas

2.2.1. Introducción

La aplicación de las tecnologías de membranas para la conservación y la obtención de alimentos es claramente una tecnología emergente en este sector. De hecho, los procesos de membrana se utilizan para concentrar o bien fraccionar un líquido en dos de diferente composición.

El proceso de separación se fundamenta en la permeabilidad selectiva de un componente o más de los líquidos a través de la membrana y en un gradiente de presión hidrostática. Los procesos de membranas de filtración más importantes para la industria alimentaria son: microfiltración (MF), ultrafiltración (UF), nanofiltración (NF) y ósmosis inversa (OI).

Los procesos de filtración por membranas son cada vez más usados en la industria alimentaria, especialmente en la láctica y la de bebidas en general. Las ventas anuales de membranas en la industria alimentaria se estiman en más de 300 M€, distribuidos de la manera siguiente: 50% MF, 25% UF, 15% OI y 10% ND.

2.2.2. Separación por membranas

2.2.2.1. Definición de membrana

Una membrana se puede considerar que es una barrera o película permeoselectiva entre dos medios fluidos, que permiten la transferencia de determinados componentes de un medio a otro a través de ella y evita o restringe el paso de otros componentes.

El transporte de componentes a través de la membrana se efectúa siempre aplicando una fuerza impulsora. Esta fuerza puede ser debida a gradientes de concentración, de presión, de temperatura o de potencial eléctrico.

La permeabilidad selectiva está regida por la medida de la partícula, por la afinidad química con el material de la membrana y/o por la movilidad de los componentes a través de la membrana (movimiento difusivo o convectivo)

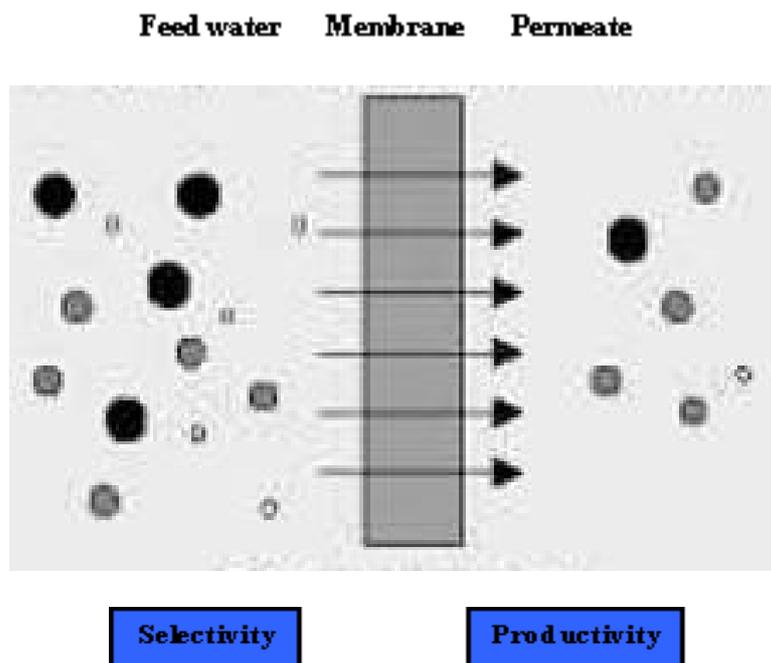


Fig.21- esquema dos medios separados por membrana

Las membranas, para ser efectivas en los procesos de separación y filtración, deben de ser resistentes químicamente, tanto con el alimento como con los productos de limpieza, ser mecánicamente y térmicamente estables, tener una permeabilidad elevada, alta selectividad y resistencia a las operaciones.

2.2.2.2. Espectro

La tecnología de membranas tiene muchas ventajas, comparada con otras técnicas de separación convencionales. Una de ella es la separación se puede llevar a cabo en condiciones térmicas ambientales, sin aumentar la temperatura y, por tanto, es adecuada por productos sensibles a procesos por calor, lo que aumenta la cantidad de producto. Además, el coste de la operación, mantenimiento y mano de obra es menor que en los procesos térmicos, se puede separar de forma continua o discontinua, y permite la

combinación con otros procesos. En cambio, tiene como desventajas importantes, el fouling o ensuciamiento de la membrana, que al hacer disminuir el flujo, con lo que el tiempo de filtración aumenta y se puede favorecer el crecimiento de microorganismos en la membrana, lo que requiere una limpieza más frecuente, y esto aumenta el coste y el tiempo entre filtraciones.

Ventajas	Inconvenientes
No es necesario calentar el alimento	Inversión inicial importante
La concentración por membranas no exige cambio de fase	Variaciones del flujo del producto a filtrar
Tiene menos gastos de mantenimiento y mano de obra que la evaporación	Obstrucción de la membrana
Pocas exigencias de espacio	Concentración y desarrollo de microorganismos

Tabla.5- Ventajas e inconvenientes de separación por membranas

No obstante, las muchas ventajas de esta técnica han hecho que se haya avanzado rápidamente en la industria alimentaria. El espectro de aplicaciones va desde la microfiltración hasta la ósmosis inversa. Estas aplicaciones se refieren a diversos sectores de la industria, como el sector láctico, frutas y hortalizas, bebidas y el proceso de semillas y azúcares.

Principalmente son cuatro los procesos que utilizan la presión como fuerza impulsora para realizar la separación en fase líquida mediante membranas

permeoselectivas. Estos procesos son la microfiltración, ultrafiltración, la nanofiltración y la ósmosis inversa. El tamaño de las partículas y sus propiedades químicas son lo que determina las características estructurales, como la medida y la distribución del poro de las membranas en cada proceso.

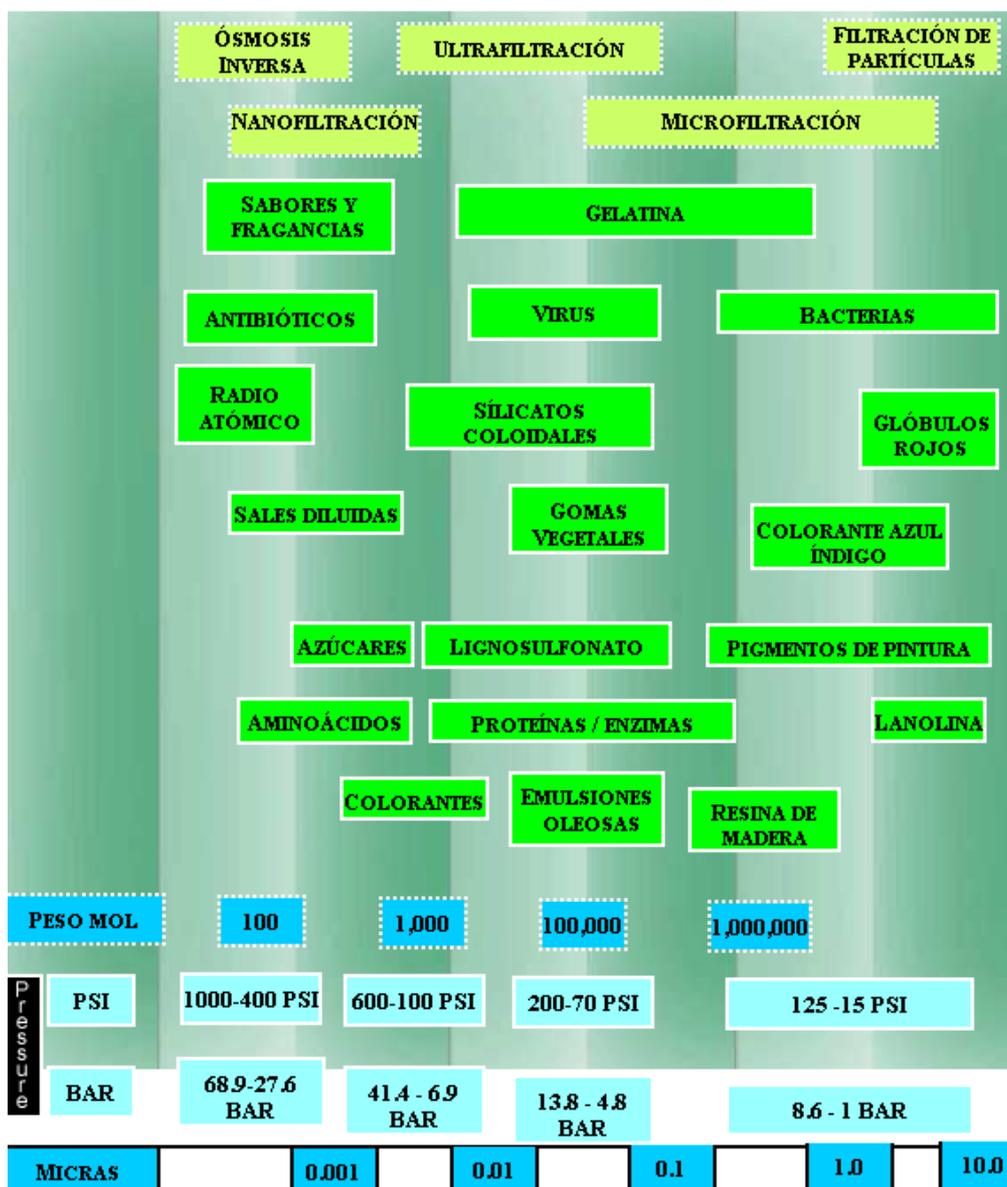


Fig.22- Relación del tamaño del poro y la presión aplicada

En esta tabla se observa el nivel de separación, el tamaño de las partículas, la presión aplicada, la diferencia de presión transmembrana, y la densidad de flujo según la presión.

-Microfiltración (MF). Separación de las partícula en suspensión en un líquido, principalmente bacterias y levaduras. Las membranas de MF se clasifican por el diámetro de las partículas más pequeñas que quedan retenidas y oscila entre 0,1 y 10 μm . Las presiones de trabajo son más bajas que el resto de procesos, entre 0,1 y 2 bar.

En muchos casos, las partículas son adsorbidas en la superficie del poro reduciendo significativamente su diámetro efectivo; simultáneamente se puede dar una disposición de partículas en la superficie de la membrana, que forman una capa o un segundo filtro. Estos dos fenómenos son suficientes para retener muchas veces partículas más pequeñas que el propio diámetro del poro.

La MF normalmente se utiliza para remover partículas de aguas residuales.

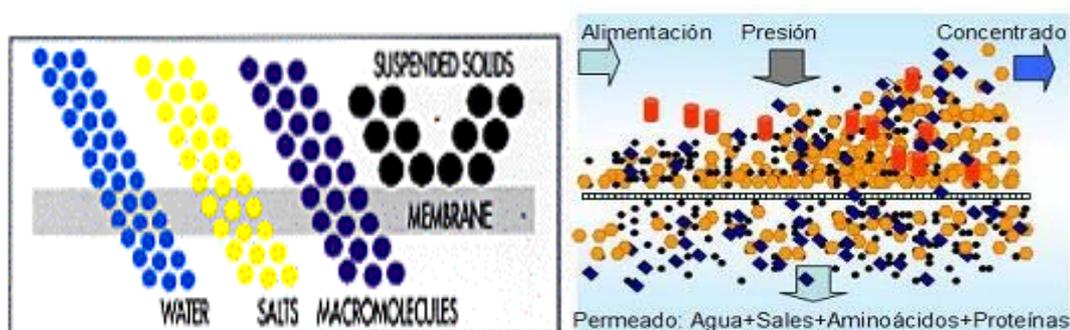


Fig.23- separación MF

-Ultrafiltración (UF). Concentración de grandes moléculas y macromoléculas de peso molecular de entre 1000 y 500 000, como las proteínas u el almidón. Las membranas de UF se clasifican por el peso molecular de corte, también conocido como MWCO (molecular weight cut-off) de la membrana, que equivale al peso molecular de la molécula más pequeña, el 90% de la cual es retenida por la membrana. El MWCO debe de ser, como mínimo, la mitad de la partícula más pequeña que se ha de remover, y oscila entre 1 y 100 nm. Como que no hay prácticamente diferencias osmóticas, la presión de operación oscila entre 2 y 5 bars.

Las membranas de UF son normalmente membranas porosas, en que la retención se basa en la medida y la forma de los solutos de la medida del poro, y en que el transporte a través de la membrana es directamente proporcional a la presión aplicada. Estas membranas suelen ser de estructura asimétrica, con una capa superficial más densa (menor diámetro de poro y menor superficie porosa) y, por tanto, con una mayor resistencia hidrodinámica. Esto ha hecho que recientemente se hayan desarrollado muchos estudios para mejorar el flujo, aumentando la porosidad de la membrana. Otro factor estudiado en este tipo de membranas es el fouling, que provoca una disminución del flujo con el tiempo, que se intenta evitar con un pretratamiento del alimento y/o modificando las propiedades fisicoquímicas de la membrana. Si este ensuciamiento se puede reducir se deberán aplicar menos productos químicos para la limpieza, de manera que la vida útil de la membrana se alarga.

Actualmente las membranas de UF son de materiales poliméricos, como la celulosa, la polisulfona, el polivinilo, etc. Adicionalmente, material inorgánico (cerámico), especialmente alumina, óxido de sílice y óxido de zirconio, utilizado en procesos de UF que requieren trabajar a más temperatura o en un rango de pH más amplio, todo y que son más caros.

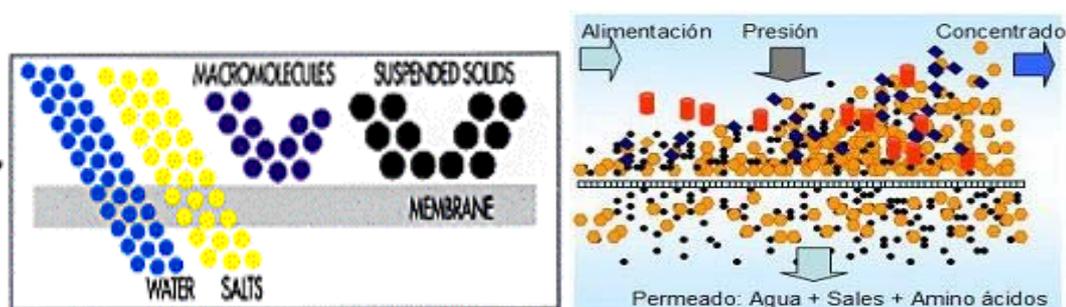


Fig.24- separación UF

-Nanofiltración (NF). Concentración de componentes orgánicos por eliminación de iones monovalentes (desmineralización). Retienen moléculas de soluto con el peso molecular de entre 100 y 1000. Las membranas se clasifican, igual que la ultrafiltración, por el peso molecular de corte o MWCO. Las presiones de operación oscilan entre 5 y 20 bares.

El principio de separación por moléculas sin cargas es por diferencia en el tamaño y la forma de los solutos respecto del tamaño del poro, mientras que por moléculas cargadas la retención se dan por interacciones electrostáticas. Normalmente las membranas de NF son de poliamida y suelen estar cargadas negativamente, de manera que la retención de aniones es predominante (gracias a las fuerzas de repulsión entre partícula y membrana).

La aplicación principal de la NF es la desmineralización del agua. También se aplica para remover colorantes orgánicos y precursores trihalometano, como el ácido húmico.

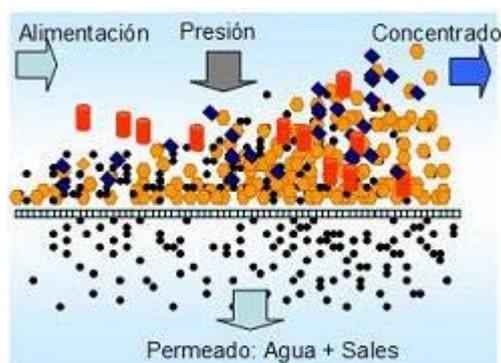


Fig.25- separación NF

-Ósmosis inversa (OI). Concentración de soluciones por eliminación de agua. Utiliza las membranas más finas (con poros de diámetro inferior a 1 nm), que permiten separar las moléculas más pequeñas. Las membranas de OI se clasifican por el porcentaje de rechazo de cloruro sódico en una solución acuosa en determinadas condiciones y oscila entre el 99,5 y 95 %. Las presiones de trabajo son elevadas, entre 10 y 00 bares para superar la presión osmótica de las soluciones de pequeñas moléculas.

En el proceso de separación, las moléculas de agua (de 0,1 nm de radio, aproximadamente) pueden pasar libremente a través de la membrana, mientras que los iones disueltos y los compuestos orgánicos no pueden. En la solución, las interacciones que existen entre las moléculas de agua, la membrana y los solutos son las responsables de la separación. Las membranas de OI son muy hidrófilas, de manera que las moléculas de agua

son atraídas fácilmente. Todo seguido, por difusión son transportadas a través de la estructura polimérica de la membrana, en que puede ser arrastrado algún soluto de peso molecular pequeño, <200, adheridos a estas moléculas. El mecanismo de separación en la OI es, por tanto, la disolución-difusión, y el material de la membrana es decisivo a la hora de mantener buena afinidad con los componentes del permeato para disolverse en su estructura.

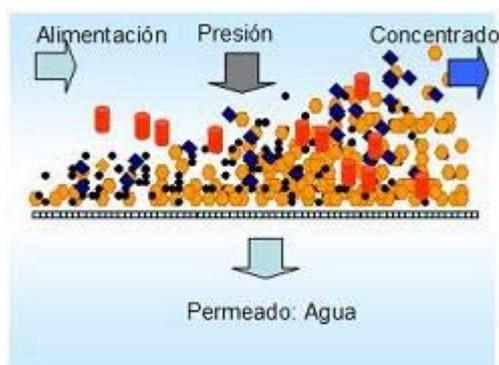


Fig.26- separación por OI

Cuando tenemos agua pura separada para una membrana semipermeable de una solución salina, el solvente (agua) pasa a través de la membrana en la dirección de la solución de más concentración hasta llegar a un equilibrio: este proceso es la ósmosis. La fuerza impulsora de este proceso aplicada a una superficie es la presión osmótica o diferencia de presión entre los dos medios. Según la ecuación de Van't Of, la presión depende del tipo de solutos presentes y de su concentración, y es más grande en moléculas pequeñas o de bajo peso molecular y en altas concentraciones. Generalmente, los constituyentes primarios de los alimentos que influyen sobre la presión osmótica (II) son las sales y los azúcares.

$$\Pi = RT (C/MW)$$

dónde C es la concentración del soluto, R la constante universal de los gases, T la temperatura y MW el peso molecular del soluto.

A medida que se llega a la presión de la solución de más concentración, la fuerza impulsora o presión osmótica se va reduciendo. Si se aplica una fuerza o presión exactamente igual a la presión osmótica, no hay un flujo de agua que pase a través de la membrana. En cambio, si se aplica una fuerza que supera la presión osmótica, hay un flujo que pasa del compartimiento de más concentración del flujo es opuesto a la de la ósmosis natural

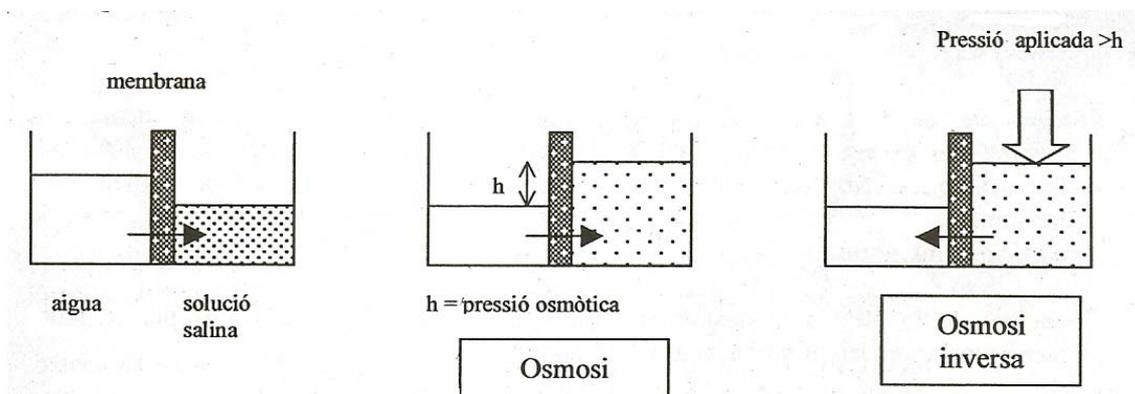


Fig.27- representación esquemática de la ósmosis y de la ósmosis inversa

Producto	Contenido en sólido (%)	Peso molecular	Presión osmótica (kPa)
Agua de mar	3,5	58,5	1 550
Lactosa/sacarosa	5	342	450
Caseína	3,5	25 000	104
Leche	11	-	790
Zumo de naranja	11	-	1 700
Zumo de manzana	14	-	2 200
Zumo de uva	16	-	2 200
Extracto de café	28	-	3 500

Tabla.6- Diferentes concentraciones de sales y presiones

Las membranas de ósmosis inversa pueden ser de celulosa o de poliamida y permiten un gran flujo de agua y una alta retención de sales. También se pueden utilizar membranas de ultrafiltración de polisulfona cubierta con una capa de poliamida, que dan mayor selectividad.

La aplicación principal de la ósmosis inversa se da en la desalinización del agua marina o de agua superficial, eliminando los contaminantes orgánicos o los residuos químicos.

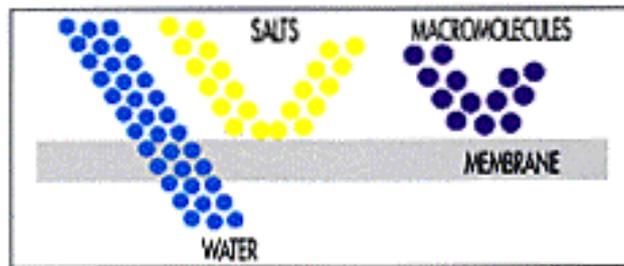


Fig. 28- separación OI

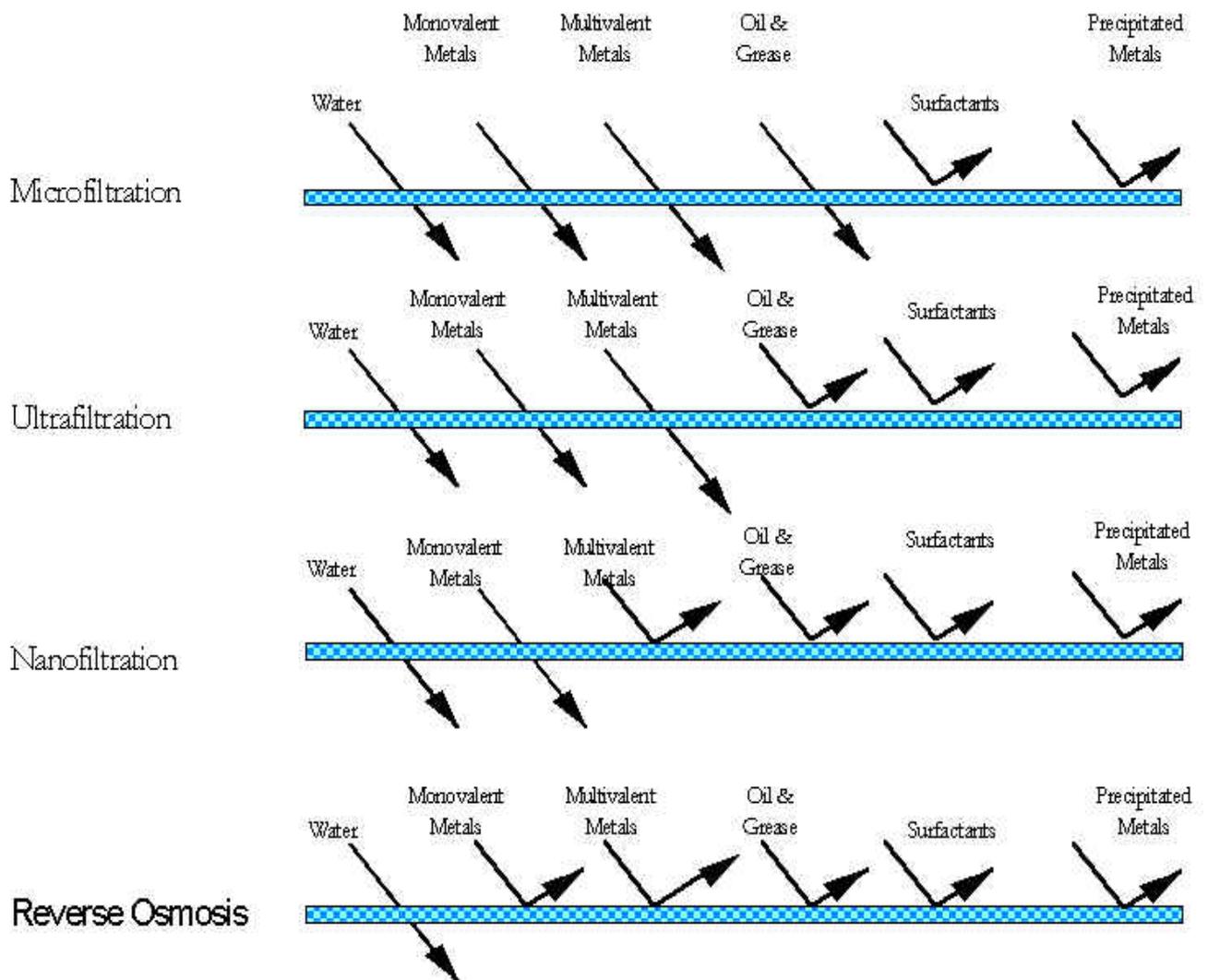


Fig.29- principios de separación por membranas

	Ósmosis inversa	Nanofiltración	Ultrafiltración	Microfiltración
Nivel separación	Sales monovalentes Solutos de bajo PM (glucosa, lactosa)	Sales divalentes Solutos de bajo PM	Macromoléculas (proteínas) Coloides	Partículas (bacterias, levaduras)
Principio	Diferencia de solubilidad y difusividad	Diferencia de solubilidad y difusividad Tamaño de la partícula y carga	Tamaño de la partícula	Tamaño de la partícula
Mecanismo	Disolución-difusión	Disolución-difusión Capilar	Capilar	Capilar
Influencia presión osmótica	Alta (5-25 bar)	Moderada	Despreciable	Despreciable
Presión aplicada (bar)	15-25 (agua dulce) 20-40 (agua marina)	10-40	2-10	0,2-2
Flujo medio (l/m²·h)	5-40	20-70	5-200	>200

Tabla.7- Comparación de procesos de membrana gobernados por presión

Existen otros procesos de separación por membranas en que no se utiliza la presión como fuerza impulsora: la diálisis, la electrodiálisis y la pervaporación.

-Diálisis. Es un proceso en que los solutos son transportados de un lado de la membrana hacia el otro por difusión utilizando como fuerza un gradiente de concentración. El flujo a través de la membrana es directamente proporcional a la diferencia de concentración e inversamente proporcional al grosor de la

membrana. La separación se da por diferente coeficiente de permeabilidad de los solutos: sales iónicas de bajo peso molecular o solutos neutros (urea) pasan fácilmente la membrana, mientras que compuestos de alto peso molecular presentan más resistencia al paso.

-Electrodialisis. Es un proceso en que las membranas están cargadas eléctricamente y pueden remover iones de soluciones acuosas. Hay un número de membranas de intercambio iónico y se aplica corriente, los aniones migran hacia el electrodo negativo y los cationes son atraídos por el electrodo positivo. Las membranas de intercambio catiónico retienen los ánodos y las de intercambio aniónico retienen los cátodos. Se produce una desionización de la solución.

-Pervaporación. O separación de gases. Es un proceso de membrana que permite la separación de moléculas de gas según la afinidad diferente entre ellas y el material polimérico de la membrana semipermeable empleada.

2.2.3. Clasificación de las membranas y los materiales

Los materiales que se utilizan en muchos procesos de membranas pueden ser muy diferentes, ya que tanto el material como las configuraciones ofrecen muchas posibilidades. Por eso se pueden establecer diferentes clasificaciones según el elemento de referencia.

Uno de ellos puede ser la naturaleza de la membrana: biológica o sintética. Estos dos tipos de membrana son muy diferentes en estructura y funcionalidad.

En la naturaleza existen mecanismos que cumplen la definición de membrana y son consideradas barreras biológicas. Tienen una importante función reguladora celular o de intercambio entre el medio interno de los seres vivos y el medio externo.

Entre las membranas sintéticas podemos distinguir entre las poliméricas y las inorgánicas.

Las membranas poliméricas u orgánicas están hechas para una gran variedad de polímeros. Las membranas poliméricas hidrófobas suelen ser de polietrafluoroetileno (PTFE, teflón), polivinilo de flúor (PVDF), polipropileno (PP), polietileno (PE), polisulfona (PSF) o polietersulfona (PES), mientras que las hidrófilas están hechas de ésteres de celulosa que son biodegradables, policarbonatos (PC), poliamidas (PI/PEI) o poliamidas (PA). En general, las membranas hidrófobas presentan más problemas de ensuciamiento irreversible que las hidrófilas; por este motivo son más utilizadas las segundas en procesos industriales de separación. La desventaja de estas membranas es la baja resistencia a la temperatura y al pH.

Las membranas cerámicas o inorgánicas están hechas de materiales como la alúmina (Al_2O_3), el óxido de zirconio (ZrO_2) o el óxido de sílice (SiO_2). Son

membranas rígidas que permiten un flujo de 5 a 10 veces más grande que las poliméricas. Resisten los productos químicos y se pueden limpiar fácilmente sin dañar la capa superficial. Toleran temperaturas elevadas y, por tanto se pueden esterilizar. Estas propiedades las hacen muy adecuadas para aplicaciones biotecnológicas. Otra ventaja es su larga vida útil, hasta 10 años, comparada con la vida útil de las membranas poliméricas de 1 año por las hidrófilas, y de 2 a 3 años por las hidrófobas. La desventaja de las membranas cerámicas es su coste elevado.

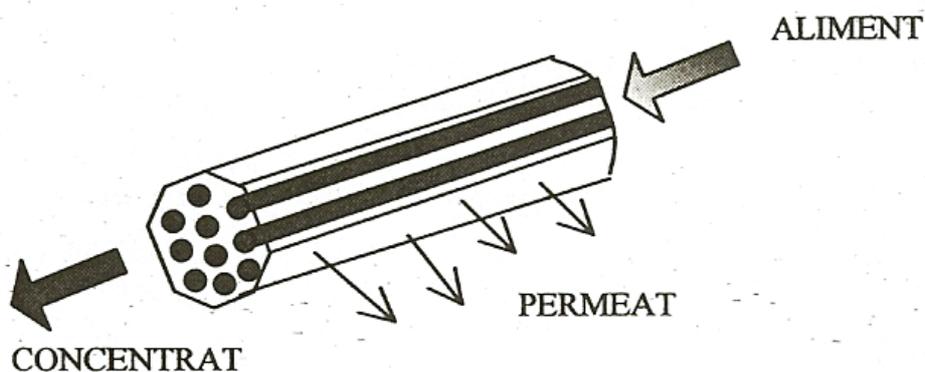


Fig.30- configuración multicanal de membrana inorgánica

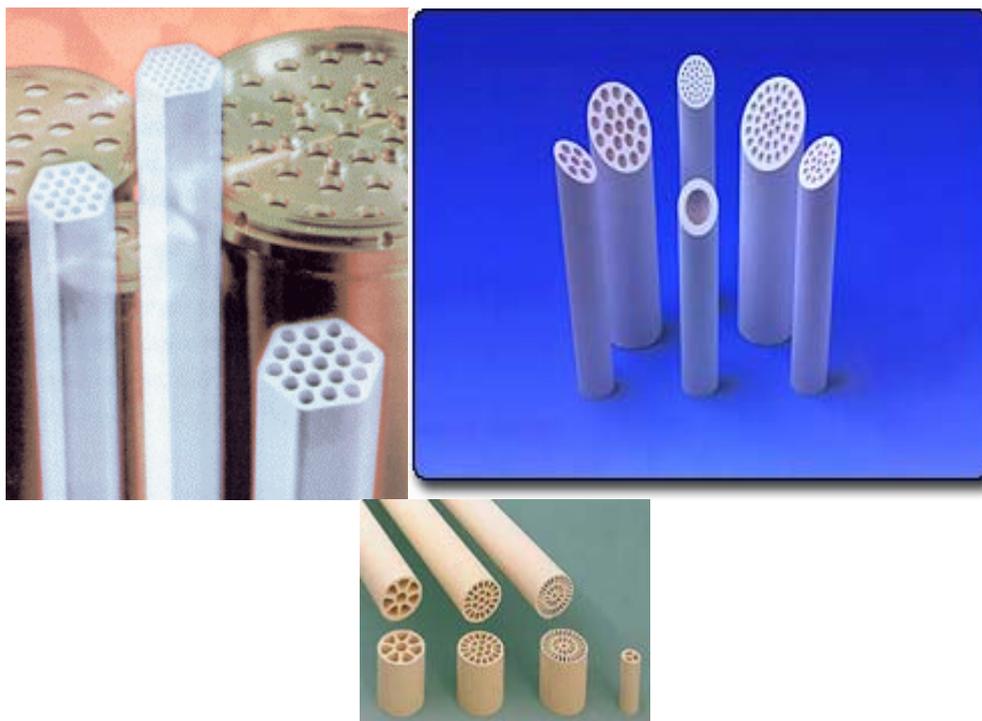


Fig.31- membranas cerámicas

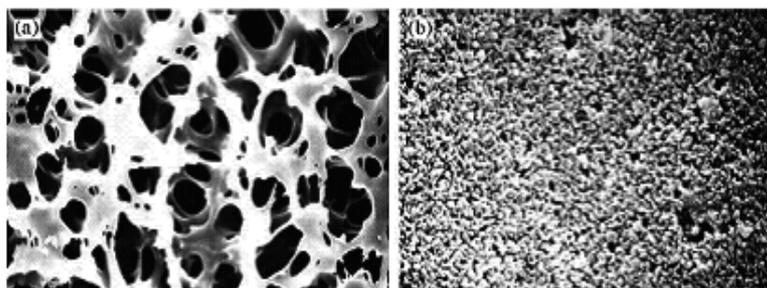


Fig.32- Superficie membrana orgánica (a) y una membrana cerámica (b)

Existen también las membranas semicerámicas, que consisten en una matriz polimérica bañada por una capa de material inorgánico.

Hay otra clasificación según la estructura de la membrana, que puede ser homogénea, asimétrica o compuesta:

-Membrana homogénea. Tiene un grosor considerable de 10 μm o más y puede ser porosa o sin poros. Su porosidad puede variar a diferentes distancias de la superficie.

-Membrana asimétrica. Normalmente tiene una capa activa de 0,1 μm, con poros o sin, en contacto con la superficie, que rife la transferencia de materia, y se combina con una capa densa o microporosa que da selectividad y una capa fina que da permeabilidad. Estas capas tienen la misma composición química, pero propiedades físicas graduales. Las membranas de ultrafiltración suelen tener esta estructura.

-Membrana compuesta. Está formada por una capa permeable, cubierta con una capa de otro material (polímero) escogido por su alta selectividad. Normalmente las membranas de nanofiltración u ósmosis inversa son membranas asimétricas de ultrafiltración en las que se ha aplicado otra capa, más selectiva. También se conoce con el nombre de TFC (thin film composite)

Material	PH límite	T° máxima	P máxima	Resistencia bacteriana	Tolerancia al Cl₂
Acetato de celulosa	Mala	Mala	Regular	Mala	Mala
Poliamida	regular	Regular	Regular	Excelente	Mala
Poliamida compuesta	Buena	Buena	Regular	Excelente	Regular

Material	PH límite	T° máxima	P máxima	Resistencia bacteriana	Tolerancia al Cl₂
Poliéster compuesto	Excelente	Buena	Regular	Excelente	Mala
Mineral	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente

Tabla.8- Comparación de propiedades de membranas de diferentes materiales

Tipo	PH	°C	Aplicación	Características
Celulósicas (Acetato de celulosa)	3-6	30-50	UF/OI	Se dañan por cloro, cloruros, enzimas y algunos microorganismos. Son económicas
Polímeros orgánicos (polisulfonas, poliamidas aromáticas, poliacrilonitrilo)	1-13 1-11 1-10	60-75 40 60	UF	Tienen mejor resistencia al pH, al cloro (50 ppm) y a la limpieza que las anteriores
Minerales o cerámicas (óxido de zirconio, alúmina)	1-14	Hasta 3 000	Uf/MF	Son materiales inertes, rango amplio de pH y temperatura, resistentes al cloro, más higiénicas y caras

Tabla.9- Características constructivas de membranas de diferentes materiales



Fig.33- membranas homogéneas

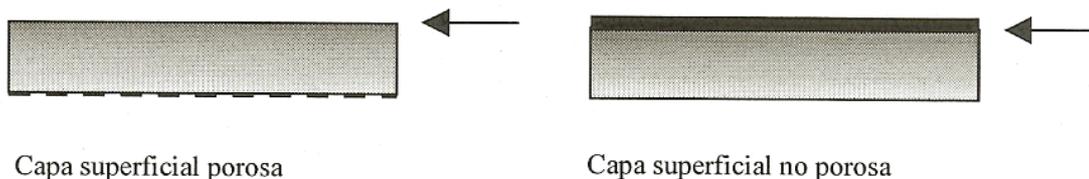


Fig.34- membranas asimétricas

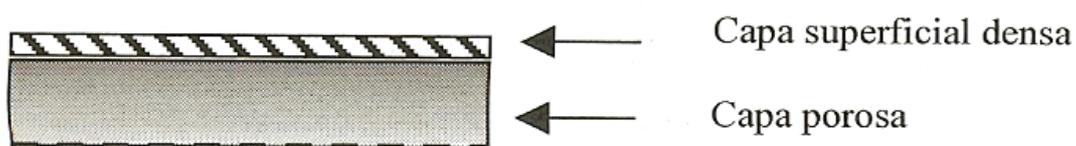


Fig.35 membranas compuestas

Otra clasificación puede ser según la porosidad de la membrana:

-Membrana porosa. Formada por poros que pueden ir desde 5 nm hasta a alguna micra. Las partículas más grandes que el tamaño quedan retenidas, mientras que las más pequeñas pasaran a través de la membrana. Este es el fundamento de la microfiltración y la ultrafiltración.

-Membrana microporosa. Formada por poros de 1 a 5 nm de diámetro. En este caso, los efectos de carga de partículas son más importantes en el proceso de separación que los efectos de tamaño de partícula.

-Membrana no porosa. Membrana con poros de tamaño inferior a 1 nm de diámetro. Las partículas pequeñas no pueden pasar por si mismas si se considera el factor tamaño; por tanto, son importantes las interacciones químicas que sedan entre partícula y membrana (fuerzas de atracción y repulsión, puentes de hidrógeno...)

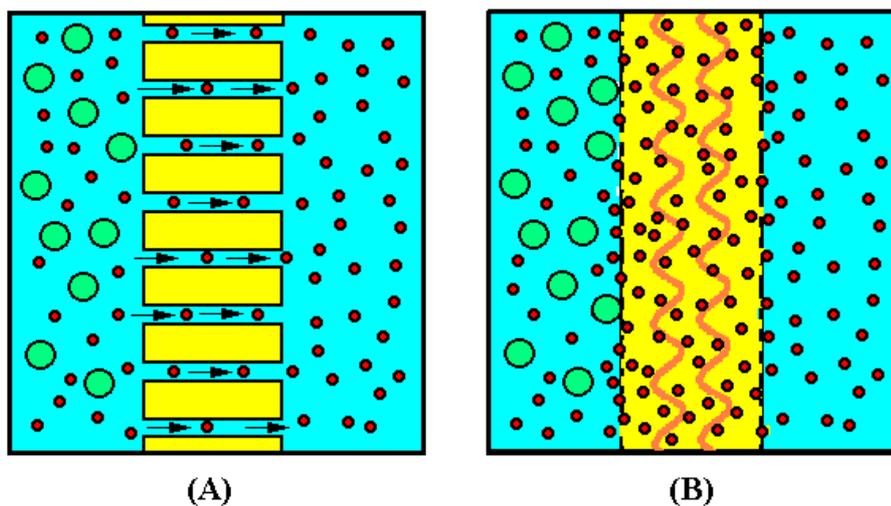


Fig.36- Modelo de poros (Izquierda) y modelo de adsorción- difusión (derecha)

Separación	Tamaño poro	Estructura membrana	Grosor capa activa	Material membrana
Ósmosis inversa	< 1nm	Asimétrica	0,1-1,0 μm	Acetato celulosa Poliamidas
Nanofiltración	1 nm	Asimétrica	0,1-1,0 μm	Acetato celulosa Poliamidas Polivinilo
Ultrafiltración	1 nm-50 nm	Asimétrica		Polímeros (polisulfona, poliacrilonitrilo) Cerámicos (óxido zirconio, óxido aluminio)
Microfiltración	0,1-1,0 μm	Simétrica Asimétrica porosa	10-150 μm	Polímeros cerámicos

Tabla.10- Características de membranas en procesos de presión

2.2.4. Operaciones y procesos

2.2.4.1. Variables que definen el comportamiento

En todo proceso de membrana, existen 3 corrientes:

- 1) Alimento: disolución que se quiere tratar
- 2) Permeato: corriente que es capaz de atravesar la membrana. Esta constituida por el solvente y algunos solutos. Es rico en sustancias con tendencia a atravesar la membrana

- 3) Concentrado: corriente que no ha pasado a través de la membrana. Ha perdido parte de la disolución alimento y, por tanto, aumenta la concentración de sustancias que no pueden atravesar la membrana

La corriente de interés del proceso puede ser el permeato, el concentrado o ambos, dependiendo del objetivo de la separación:

-Concentración. El componente deseado se encuentra en baja concentración en la corriente del alimento y es el disolvente, permeato, el que se elimina para aumentar el componente que se quiere concentrar.

-Purificación. Las impurezas o los componentes no deseados se eliminan en el corriente de permeato o en el de concentrado.

-Fraccionamiento. Cuando una mezcla se separa en dos o más componentes deseados.

Si el objetivo del proceso es concentrar, la corriente de interés es el retenido o concentrado. Si se quiere purificar, la corriente de interés es o bien el concentrado o el permeato, según cual contenga las impurezas que se quieran eliminar. Si se quiere realizar un fraccionamiento, las dos corrientes pueden ser de interés.

La separación se da gracias a la facilidad que tiene la membrana en transportar un componente de una de las fases a través de ella. El transporte se efectúa por la acción de una fuerza impulsora.

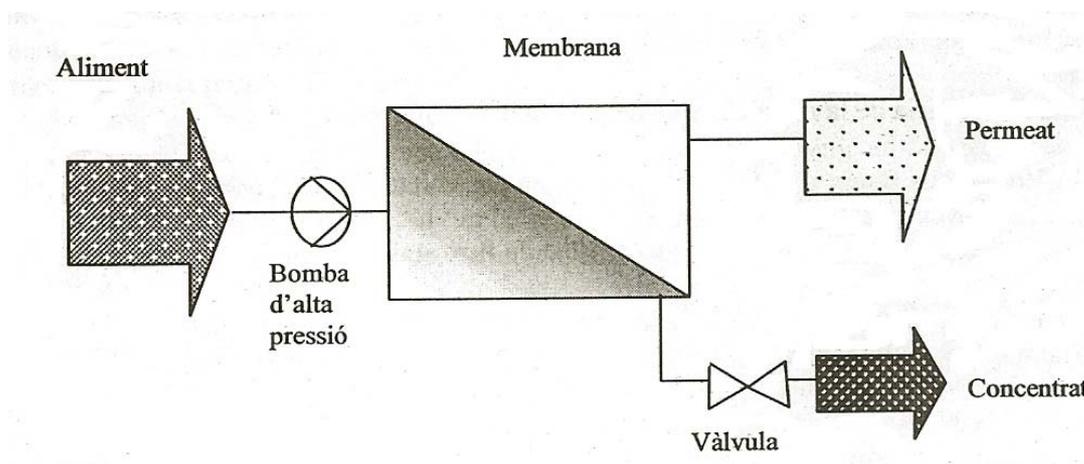


Fig. 37- representación esquemática de proceso de separación por membrana

2.2.4.2. Fuerza impulsora

La fuerza impulsora aporta la energía necesaria para la separación de la mezcla en un proceso no espontáneo. La energía disminuye la entropía global del sistema superando las resistencias del proceso, como la fricción de los componentes a través de la membrana, y debe ser capaz de superar fuerzas impulsoras adicionales, como la presión osmótica. Para que un proceso se dé a una velocidad adecuada, la fuerza impulsora debe ser superior a la mínima necesaria.

Principio	Fuerza impulsora	Operación
Eléctrico	Gradiente de potencial	Electrodialisis
Químico	Gradiente de concentración	Diálisis, Preevaporación
De presión	Gradiente de presión	Ósmosis inversa, NF, UF

Tabla.11- Procesos de separación clasificados por fuerza impulsora

2.2.4.3. Eficiencia de la membrana

El comportamiento de un sistema de separación por membranas se valora según la capacidad de producir grandes volúmenes de filtraje en un periodo corto de tiempo, y según el grado de pureza del filtraje respecto a la concentración del soluto.

Básicamente, la eficiencia de la membrana viene determinada por tres parámetros:

-Flujo (J). Volumen que fluye a través de la membrana por unidad de área y de tiempo. Corresponde al flujo de permeato. Las unidades se expresan en $\text{m}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, $\text{l}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, $\text{l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$. Si se refiere a la densidad de flujo másico se expresa en $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, y la densidad de flujo molar, en $\text{moles} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$.

Según la ecuación de Hagen-Poiseuille para el flujo laminar a través de una matriz capilar, el flujo (J) de una solución pura es linealmente proporcional a la porosidad de la superficie (ε), al cuadrado el diámetro del poro (d_p) y a la diferencia de la presión transmembrana (Δp) e inversamente proporcional a la viscosidad (μ), al grosor de la membrana (Δx) y a la tortuosidad (τ^0), que equivale a la relación entre la longitud de un canal y el grosor de la membrana:

$$J = [\varepsilon \cdot d_p \cdot (-\Delta p)] / [32 \cdot \Delta x \cdot \mu \cdot (\tau^0)^2] = |\Delta p| / \mu \cdot R_m$$

Donde R_m se refiere a la resistencia de la membrana

Cuando se habla de solución en presencia de solutos, se han de tener en cuenta también otros dos factores. Uno es la presión osmótica ($\Delta\pi$), que se da porque el permeato tiene una concentración de soluto inferior a la del concentrado y se origina un diferencial de concentraciones. Por otro lado, hay una acumulación de componentes retenidos que aumentan la concentración, lo que puede provocar una resistencia adicional al flujo de permeato (R_s) al formarse una capa en la superficie de la membrana.

$$J = (|\Delta p| - |\Delta\pi|) / [\mu \cdot (R_m + R_s)]$$

El factor de presión osmótica es despreciable en la microfiltración y la ultrafiltración, pero tiene importancia en la nanofiltración y en la ósmosis inversa.

-Reposición. Es una relación entre el flujo de permeato obtenido con el flujo original del alimento. Se puede expresar con el factor de reducción volumétrica o con el factor de conversión (o factor de reposición)

el factor de reducción volumétrica (VR) equivale al volumen de concentrado obtenido respecto al volumen del alimento final.

El factor de conversión (Y) equivale al volumen de permeato obtenido respecto del volumen del alimento original; $Y = 1 - (1/VR)$

Si tenemos una reposición de la membrana (Y) elevada, el volumen del permeato obtenido es grande, y por tanto, la concentración en el retenido

también se incrementa. Esto provoca un aumento en la presión osmótica y, consecuentemente, más presión de operación para aplicar.

-Selectividad. Cuantifica la capacidad separadora de la membrana para retener un componente determinado. Generalmente viene expresada por uno de los dos parámetros:

- 1) retención (R) o fracción de solutos que rechaza la membrana
- 2) factor de separación (α) o factor de enriquecimiento (β)

Para mezclas acuosas, formadas principalmente por un solvente y un soluto, es más conveniente expresar la selectividad como retención del soluto o como fracción de solutos rechazados. Así se puede considerar separación por membranas la capacidad que tiene la membrana para retener determinadas moléculas de un tamaño específico más fácilmente que el resto de componentes de la solución.

La retención viene expresada:

$$R = (C_f - C_p) / C_f = 1 - C_p/C_f$$

R= coeficiente de retención

C_f = concentración de soluto en el alimento

C_p = concentración de soluto en el permeato

El valor del coeficiente de retención varía entre el 0% y el 100%.

La selectividad por membranas de ultrafiltración se expresa muy a menudo como el MWCO o peso molecular de corte.

2.2.4.4. Factores que influyen en la disminución del flujo

Una de las razones más importantes por la cual el proceso de membranas no se utiliza más en la industria es la disminución de flujo durante la filtración; ésta es debida principalmente a una pérdida de la fuerza impulsora y/o a un incremento en las resistencias del proceso.

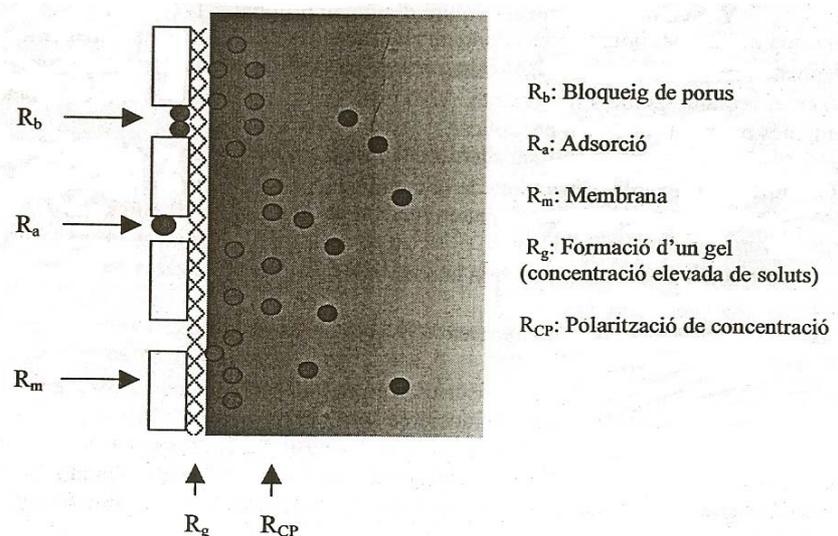


Fig.38- posibles resistencias sobre el transporte de solvente

El fenómeno de disminución del flujo se puede clasificar de irreversible. Es conocido como ensuciamiento a largo plazo o fouling, o reversible que se conoce como polarización por concentración. Estos dos fenómenos, que dependen de la propia naturaleza de la membrana y del alimento y de sus interacciones, son producidos por la deposición de solutos retenidos en la superficie de la membrana que forman una capa adicional que incrementa la

resistencia al paso del flujo. Esta deposición a largo plazo produce incrustaciones en la membrana difíciles de limpiar.

-Polarización por concentración:

Está originada por la retención de solutos en la membrana. A medida que el solvente (agua) pasa a través de la membrana, las grandes moléculas o solutos se mueven en dirección a la superficie de la membrana y se van acumulando tendiendo a una colmatación, de manera que forman una capa o película que reduce la permeabilidad. Actúa como una resistencia adicional. Al mismo tiempo se origina una retrodifusión de permeato, o difusión en sentido opuesto al flujo, debida al gradiente de concentraciones, aunque, esta retrodifusión es muy lenta. A largo plazo, el flujo siempre es menor que el original o a tiempo cero. Este fenómeno es un proceso reversible, esto quiere decir que, en el momento en que se deja de aplicar la fuerza impulsora para conducir el alimento, la capa concentrada desaparece espontáneamente (descolmatación). Además, se puede reducir haciendo pasar agua pura, que arrastra los solutos por flujo tangencial con un efecto de esbandida.

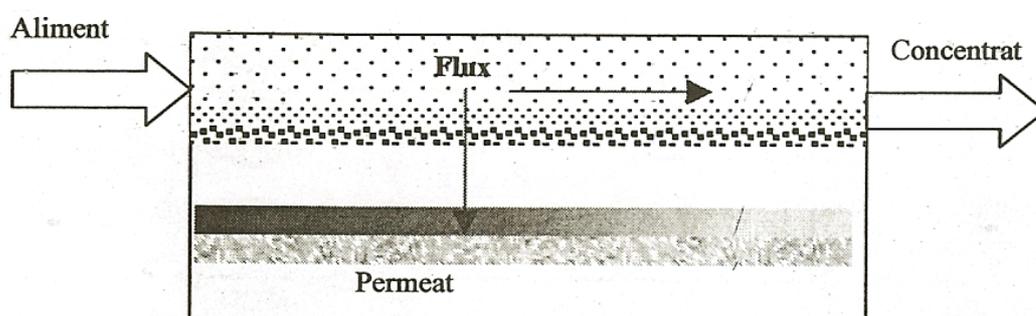


Fig.39- proceso de polarización por concentración

El efecto de polarización no tiene una distribución uniforme en toda la membrana. El flujo del solvente tiene dos vectores de movimiento: uno que se mueve paralelamente a la membrana, ya que se trata de una filtración de flujo tangencial, y otro que se mueve perpendicular a la membrana o en dirección al flujo del permeato. Los dos vectores contienen una concentración del soluto. Por este motivo hay una diferencia de concentraciones a lo largo de toda la membrana, que da lugar a una presión transmembrana variable. El extremo de entrada del alimento es el que antes se colmata y sigue una polarización por concentración gradual sobre toda la superficie, de forma que la capacidad se reduce y se hace necesario la parada del proceso para limpiar el equipo.

-Fouling:

La acumulación de solutos, coloides, macromoléculas o sales en la superficie de la membrana puede originar también deposiciones irreversibles con la misma consecuencia de disminución de flujo. Pueden estar debidas al bloqueo de poros, adsorción de soluto en las paredes de los poros o, en el caso de las proteínas, cuando la capa de proteínas acumuladas tiene una concentración tan elevada que se convierte en un gel, incrementando la resistencia de paso del flujo y alargando el tiempo de filtración, que favorece el crecimiento bacteriano.

Estos dos fenómenos tienen el efecto de disminuir la permeabilidad de la membrana. En el caso de concentración de sales, puede pasar que la concentración sea tan elevada que se supere la concentración de solubilidad de la sal, de manera que precipite y se forme la sal en la superficie de la

membrana. Esto provoca incrustaciones muy difíciles de eliminar y disminuye la eficiencia de la membrana. Existen productos químicos, como el ácido poliacrílico, que evitan la formación y la precipitación del cristal y se aplican normalmente en procesos de ósmosis inversa. Tanto el fenómeno de polarización por concentración como el de fouling dependen del material de la membrana (hidrofobicidad y carga eléctrica), del tipo de soluto, de la concentración de soluto y de la temperatura, de la fuerza iónica y el pH.

En general hay más polarización de concentración y más deposición irreversible, es decir, más reducción del flujo, cuanto mayor sea la concentración de soluto. El control del flujo es una de los motivos principales de investigación y actualmente se consigue con un pretratamiento de la corriente de alimentación para eliminar la mayor parte de los solutos, con una mejora en las propiedades físicas y/o químicas de la membrana (cambio de cargas superficiales) y con la limpieza de las membranas o un cambio en las operaciones de proceso (temperatura, pH...).

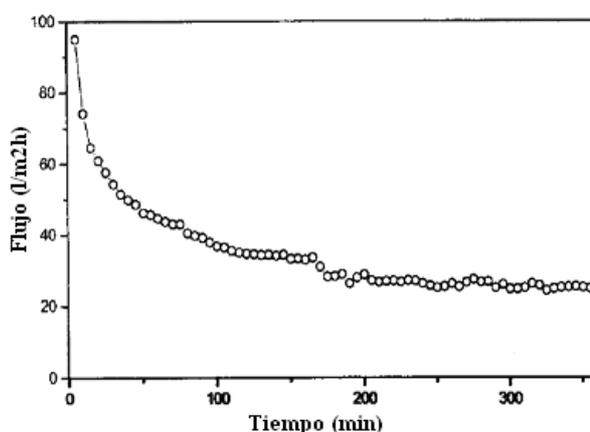


Fig.40- flujo vs tiempo

2.2.4.5. Efectos de las variables del proceso

- 1) Presión transmembrana. Al incrementarla, se incrementa aparentemente el flujo de permeato, pero también influye en el incremento de las deposiciones en la membrana que hace que, a largo plazo, el flujo disminuya. Se favorece con el tiempo la concentración de polarización y, por tanto, la retención de los componentes.

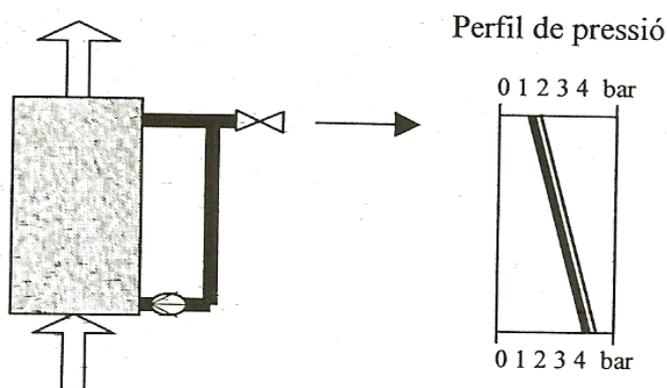


Fig.41- distribución presión a lo largo de la membrana

- 2) Flujo tangencial. Al incrementar su velocidad se mejora el flujo de permeato. La resistencia de la membrana originada por el ensuciamiento y por concentración de polarización se reduce. El propio flujo arrastra estas deposiciones. El sistema de filtración por flujo tangencial es aquel en que la solución es bombeada de forma que fluye tangencialmente, en vez de hacerlo perpendicularmente sobre la membrana. De esta forma, se consigue un efecto de inhibición de la deposición de componentes sobre la membrana, que permite un flujo de permeato mayor. Cuando el flujo se mueve perpendicularmente aplicando una presión sobre la solución, es fácil crear una nueva capa

concentrada de retenido en un lado de la membrana. La resistencia contra el fluido que pasa a través de la membrana es mayor.

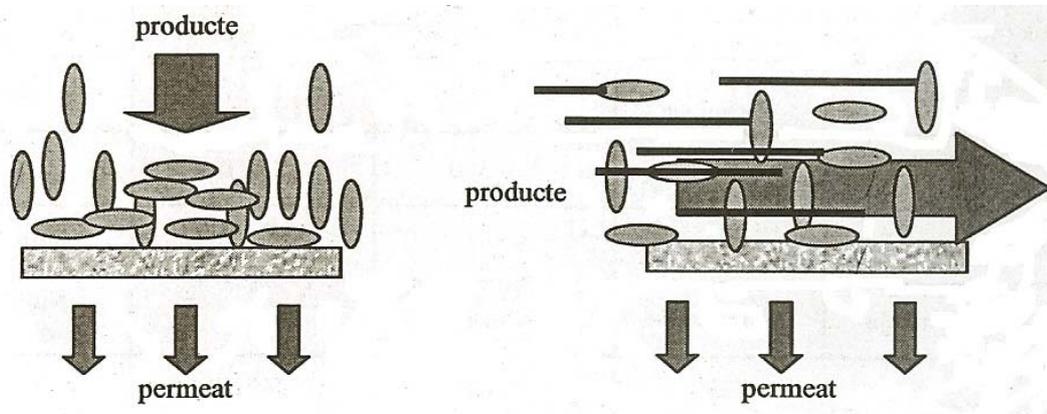


Fig.42-

flujo perpendicular

flujo tangencial

- 3) Temperatura. Al incrementarla normalmente se incrementa el flujo. Hay una disminución de la viscosidad del fluido, y en una solución con proteínas se incrementa la difusividad de estas y, por tanto, se reduce la resistencia por ensuciamiento o concentración de polarización originadas por éstas.

2.2.5. Modelos de transporte y módulos

Determinar un modelo matemático que represente el comportamiento de transporte de la membrana es esencial para diseñar y optimizar las plantas industriales. El módulo debe ser una representación a escala del proceso de separación industrial. Representa la unidad menor que contiene una membrana o más, los dispositivos de soporte de estas y los elementos necesarios para el transporte. Además, garantiza el aislamiento de la corriente de permeato. Se caracteriza por su geometría y movimiento particular del fluido y determina finalmente el tipo de flujo del fluido que se quiere procesar, el mecanismo de transporte y los fenómenos superficiales que se manifiestan sobre las membranas.

Existen cuatro tipos de módulos comerciales; las diferencias geométricas de cada tipo determinan aspectos como los rendimientos y costes.

Características	Tubular	Plana	Espiral	Fibras vacías
Superficie (m ² /m ³)	25-100	200-500	500-2000	1500-6000
Flujo (m ³ /m ² día)	0,3-1	0,3-1	0,3-1	0,004-0,1
Pérdida presión (atm)	2-3 Turbulento	1-2 Laminar	1-2 Laminar	0,3 Laminar
Velocidad necesaria (cm/s)	100-500	100-300	25-50	0,5

Características	Tubular	Plana	Espiral	Fibras vacías
Pretratamiento	Filtro	Filtro	Coagulación y filtro 50 µm	Coagulación y filtro 50 µm
Limpieza	Buena	Poca	Poca	Nula, riesgo elevado de atasco
Cambio membranas	Fácil	Fácil	Difícil	Imposible
Coste	Elevado	Elevado	Bajo	Bajo
Aplicación	UF, diálisis, MF (cerámica), OI (polímeros)	UF, OI, PV, coste energético menor por el mismo volumen de líquido retenido	UF, OI, NF, las más aplicadas	UF, OI, diálisis, tratamiento de aguas, zumos, leche, soluciones de azúcar, muy desarrolladas, poliamidas asimétricas

Tabla.12- Características básicas de diferentes módulos de membranas

2.2.5.1. Modelos con membranas orgánicas

- 1) Planos. Consisten en una serie de membranas dispuestas horizontal o verticalmente sobre separadores permeables, que actúan como canales y conduce el flujo. Los separadores pueden ser de disco o de placa y marco. La relación superficie/volumen normalmente es baja, comparada con la configuración tubular, y depende de la forma y la eficacia del material utilizado como separador y, normalmente oscila entre 100-300 m²/m³. No se aconseja para la desalinización de agua, a causa de su baja relación S/V y las altas presiones que deberán soportar (10-100 bar); en cambio, es adecuada para la recuperación y la concentración de productos de alto valor añadido, como proteínas o vitaminas.

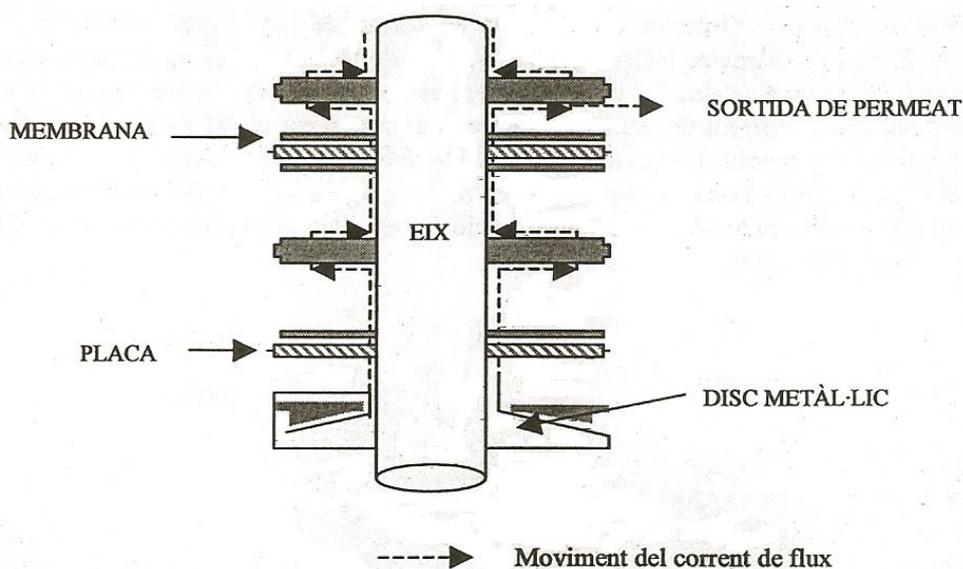


Fig.43- módulo plano de disco DDS

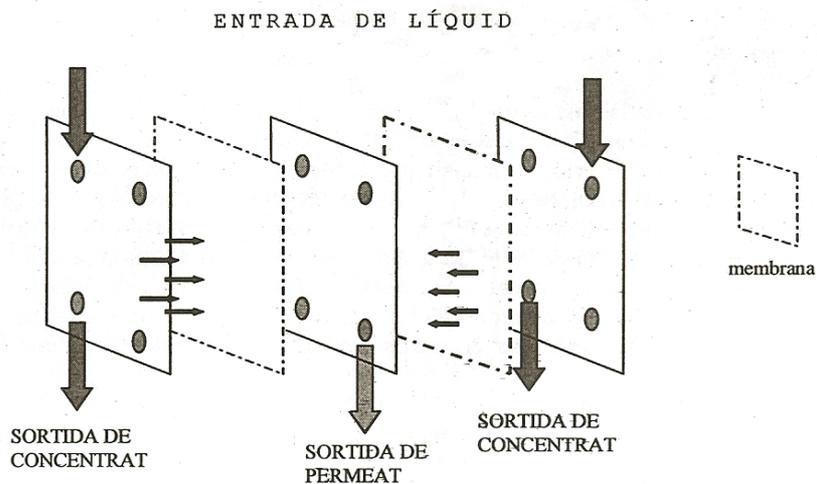


Fig.44- módulo plano de placas y marcos

2) Tubular. Las membranas se encuentran en el interior de un soporte en forma de tubo de acero inoxidable o poliéster reforzado, de 10-40 mm de diámetro y de 0,5-3,5 m de longitud. Las membranas se colocan en paralelo o en serie dentro del módulo. La disolución que se quiere tratar entra a presión por un extremo del tubo y llega al final como corriente

de retenido, mientras que el permeato pasa a través de la membrana y es recogido en el exterior del módulo. La velocidad de circulación de la solución es del orden de 6 m/s (régimen turbulento). La relación S/V es baja, entre 25-100 m²/m³, y exige más superficie de instalación y mayor coste de inversión y mantenimiento. Su configuración es sencilla y se puede utilizar en MF, UF, diálisis y OI.

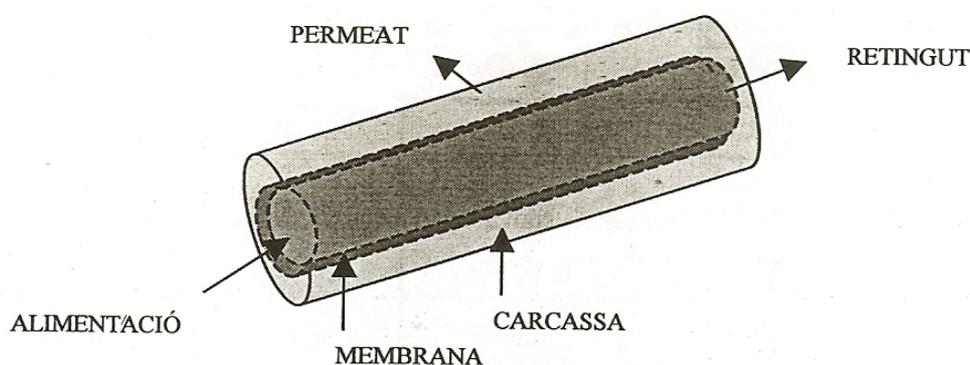


Fig.45- módulo tubular



Fig.46- membrana tubular

3) Cartucho en espiral. Las membranas en forma de lámina se colocan una sobre otra (de 4 a 10 láminas) y se enrollan sobre un eje central, y queda un cilindro que se coloca en el interior de un tubo o cartucho. La

capa activa de la lámina se orienta hacia el exterior, de forma que el flujo de permeato va en dirección exterior hacia el interior, y los solutos quedan retenidos en esta superficie activa. Una vez el permeato pasa la capa activa, una malla porosa entre las láminas es la encargada de conducirlo hacia el interior del tubo o eje central. Entre las dos capas activas se coloca una malla sintética, que conduce el alimento por toda la superficie de la membrana. Este conjunto o “sandwich” es sellado para no mezclar la corriente de permeato con otras corrientes. La corriente de alimentación y la corriente de concentrado son axiales en la dirección del eje central y paralelos a la superficie de la membrana para poder disminuir el fenómeno de polarización de concentración. No representan un coste elevado de inversión ni de mantenimiento, ya que sus elementos de membrana se pueden recuperar y ser utilizados de nuevo para configurar nuevas membranas.

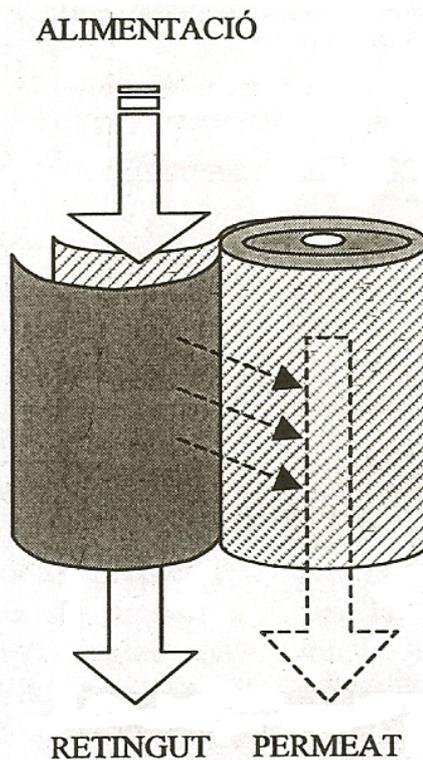


Fig.47- módulo de membrana en espiral

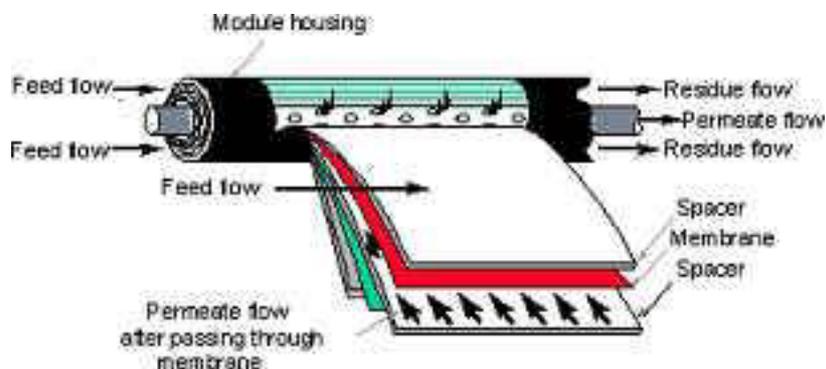


Fig.48- membrana en espiral

- 4) De fibra vacía. Formado por un haz de fibras vacías asimétricas de diámetro interior de 40 μm y diámetro exterior de 84 μm , aproximadamente. Las fibras hacen de auto soporte y resisten presiones elevadas. El haz consta de entre decenas y millones de fibras y se

encuentra dentro de un distribuidor poroso que es sellado por los extremos donde se enlazan las fibras con una resina epoxi. La corriente de alimento se impulsa radialmente hacia el haz y el transporte se efectúa por el interior de las fibras hacia el exterior, donde se recoge el permeato. Normalmente se configuran en módulos de poliéster reforzado, de hasta 1,2 m de longitud y de 10 a 25 cm de diámetro y suelen ser muy compactos. Para reducir la polarización de concentración se trabaja con flujo laminar. El factor de conversión es del 60%. No se pueden utilizar en la separación de soluciones muy concentradas porque la superficie activa se podría bloquear en poco tiempo, cosa que reduciría drásticamente la eficacia del proceso. Necesitan normalmente un pretratamiento riguroso. Su utilización está disminuyendo actualmente. Dentro de este tipo de módulo existen una variante de membranas capilares, que presentan una configuración similar a la de la fibra vacía, pero son mayores, con diámetros de 0,5 a 5 mm. Su aplicación es menos específica y se utilizan en UF, NF y OI.



Fig.49- membranas de fibra vacía

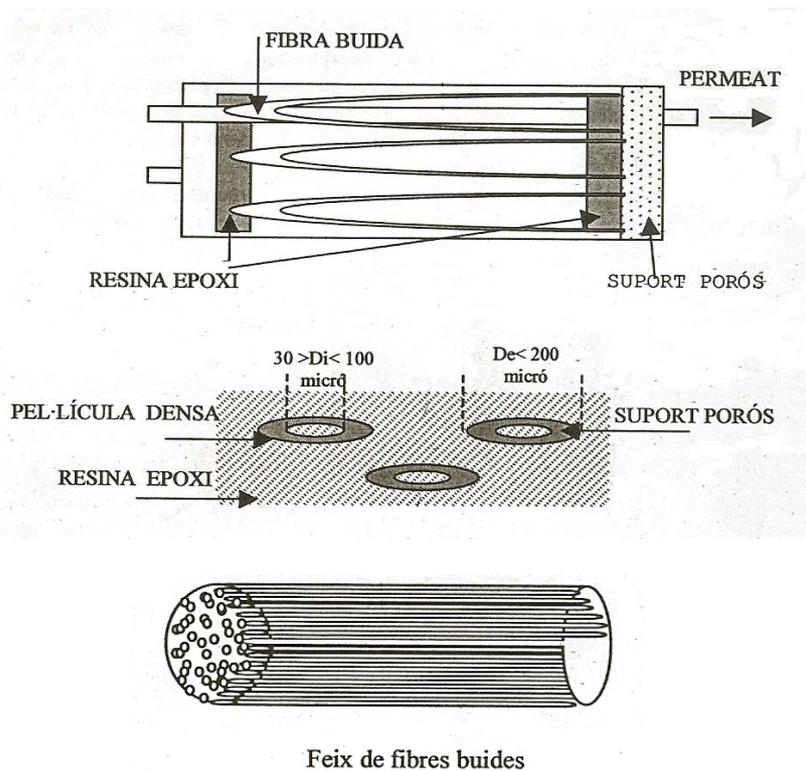


Fig.50- características y configuración de un módulo de fibras vacías

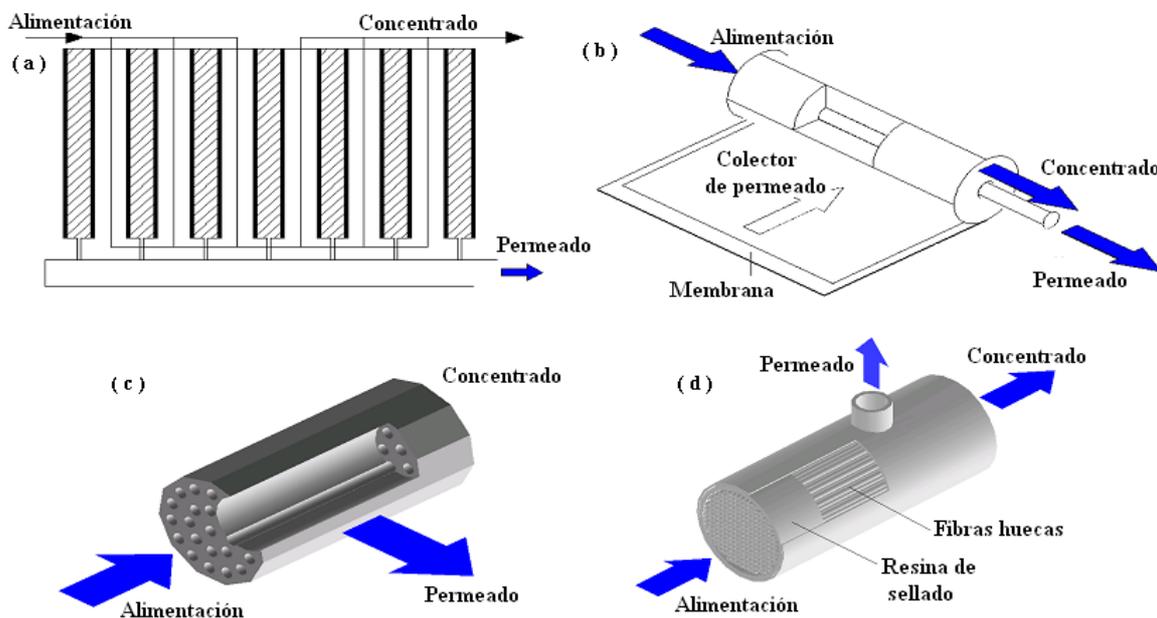


Fig. 51. Esquema de los diferentes módulos de membranas: (a) de placa y bastidor, (b) de enrollamiento en espiral, (c) tubular y (d) de fibra hueca.

2.2.5.2. Modelos con membranas inorgánicas

Las configuraciones de las membranas inorgánicas suelen ser tubulares o multicanal y están colocadas en paralelo en módulos de acero inoxidable. Los módulos están compuestos de uno o diversos elementos filtrantes. En casos concretos, se utilizan plásticos o otros materiales resistentes para construir módulos.

2.2.6. Aplicaciones de la tecnología de membranas en la industria alimentaria

La tecnología de membranas ha sido objeto de gran interés en los últimos años, gracias sobretodo a la industria química. El rango de aplicación de las membranas es muy amplio, y su nivel de ventas también lo es; aunque, presentan todavía una serie de problemas técnicos y económicos, que son motivos de estudio e investigación a fin de aumentar la efectividad de esta tecnología.

Hoy en día, son muchos los problemas de separación que se pueden solucionar con membranas comercializadas en el mercado, como la concentración y purificación de disoluciones macromoleculares, la separación de electrolitos y no electrolitos de bajo peso molecular de soluciones acuosas, el fraccionamiento económico de la mezcla de gases, la separación selectiva

de iones metálicos pesados y la difusión controlada de componentes activos en el campo de la biomedicina y la biología.

La aplicación de ésta tecnología ha evolucionado a medida que se han desarrollado mejoras de las propiedades físicas y químicas de las membranas, mejoras en las aplicaciones y en la ingeniería de procesos y, por tanto, han resultado mejores técnicamente y económicamente que otras tecnologías convencionales. Hay, por tanto, tecnologías maduras y procesos bastante fiables industrialmente, como los procesos impulsados por diferencia de presión (MF, UF, NF, OI) y otras todavía en vía de estudio sin demasiadas aplicaciones industriales, pero con un futuro posible, como membranas de transporte activo o MTA y membranas acumuladoras de energía o MAE.

Las aplicaciones principales se encuentran en el sector químico, en el tratamiento de aguas residuales o en la producción de agua potable o agua de uso industrial. El proceso de OI es uno de los más utilizados a la hora de producir agua de calidad, ultra pura, para diferentes industrias.

Las membranas de mayor aplicación en la industria alimentaria son las de MF y UF, ya que pueden trabajar a altas temperaturas y garantizan una desinfección y esterilización perfectas de los sistemas en que se manipulan alimentos, a la vez que mantienen las cualidades organolépticas.

Durante el procesamiento de alimentos, hay diferentes etapas en que la aplicación de la tecnología de membranas puede ser de gran interés.

Etapa	Razones	Oportunidades
Inicio	Condicionamiento de calidad agua disponible o de los líquidos para procesar	Mejora de la calidad Ahorro energético
Núcleo	Optimización o sustitución de las etapas del proceso para aumentar rendimientos tecnoeconómicos	Ahorro energético Mejora de la calidad Reducción del impacto ambiental
Final	Purificación-concentración de productos finales Conservación de alimentos Tratamiento de efluentes para la reutilización o abocamiento	Mejora de la calidad Reducción del impacto ambiental o prevención de la contaminación

Tabla.13- Etapas en que se aplican procesos de membrana

En la clarificación del vino, existen diferentes etapas de filtración, desde la devastadora hasta la de esterilización, que pueden ser sustituidas por una etapa de microfiltración, MF. También se puede utilizar la ósmosis inversa, OI, para concentrar el vino y acelerar el proceso de precipitación tartárica, o para obtener vino y cerveza con un bajo contenido alcohólico. La microfiltración normalmente se utiliza para esterilizar en frío la cerveza.

Estos ejemplos de aplicación de las membranas en procesos de separación, evidencian que esta tecnología presenta muchas ventajas y que su utilización continuará aumentando con el desarrollo de nuevos materiales y tecnologías. Se debe destacar que la calidad del producto obtenido con esta técnica, gracias al hecho que no se producen cambios de fase y que se trabaja a temperaturas reducidas (<50° C), generalmente es superior a la calidad conseguida por medio de otras tecnologías de concentración.

Las técnicas de separación por membrana permiten realizar separaciones sólido-líquido sin generar residuos sólidos, obteniéndose productos microbiológicamente estables sin necesidad de utilizar tratamientos térmicos. A pesar de las numerosas ventajas de los procesos de separación por membrana, existe un inconveniente principal que es el ensuciamiento de las membranas. Este ensuciamiento resulta en una notable disminución de los caudales de filtrado y modifica las propiedades de separación de las membranas. Los esfuerzos de investigación en el área de a filtración por membrana se centran en el estudio e implementación de técnicas de reducción y / o prevención del ensuciamiento (flujo inverso, flujo inverso rápido, infrasonidos), y en la caracterización e identificación de los compuestos responsables del ensuciamiento. Entre las aplicaciones potenciales de la microfiltración tangencial en la industria cervecera, dos son de particular interés: la recuperación de cerveza después de la maduración, y la recuperación de cerveza del fondo de los tanques. Utilizando microfiltración tangencial es posible recuperar entre un 1 y un 2% de la producción total de cerveza a partir de los fondos de los tanques. Las técnicas de membranas encuentran otras aplicaciones en la industria cervecera, como es la desalcoholización a través del uso de procesos como la osmosis inversa y la pervaporación.

La recuperación de cerveza procedente de levadura excedente mediante la filtración de flujo tangencial a través de membranas de cerámica forma parte de la tecnología de proceso de una cervecería moderna de hoy.

Las membranas de cerámica del más puro óxido de aluminio alfa han resultado ser muy eficaces en cuanto a la fiabilidad, la vida útil de la membrana y la calidad de la cerveza. La limpieza a elevadas temperaturas se puede efectuar con todos los detergentes, con excepción del ácido fosfórico.

La construcción modular de la instalación TFF ("Tangencial Flow Filtration") posibilita a cervecerías de todo tamaño una alta flexibilidad y en caso de una producción aumentada una ampliación posterior de la instalación sin grandes gastos de inversión.

2.3. EXTRACCIÓN DE FLUIDOS

SUPERCRÍTICOS

2.3. Extracción de fluidos supercríticos

La industria agroalimentaria esta buscando la mejor técnica para obtener extractos naturales de gran pureza, que son utilizados en una gran diversidad de aplicaciones. Al mismo tiempo, hay que garantizar que tanto los productos extractados como los extractos en si no provoquen riesgo en la salud pública sean de una excelente calidad.

Las tecnologías actuales generalmente utilizan disolventes orgánicos, que comportan riesgo debido a su toxicidad, a su poder inflamable y a los residuos que generan. Por esto se están desarrollando nuevas tecnologías para este tratamiento.

La extracción con CO₂ supercrítico esta plenamente implantada a escala comercial en la obtención de lúpulo para la elaboración de la cerveza, la obtención de aromas y sabores de especias y hierbas aromáticas y café y té sin cafeína o teína. Además, diversos procesos se encuentran en fase de expansión, como la obtención de bebidas sin alcohol, productos animales sin colesterol y aceites de semillas.

2.3.1. Fundamentos de la extracción con fluidos supercríticos (ESC)

La extracción con fluidos supercríticos es una técnica de separación de sustancias disueltas o incluidas dentro de una matriz, basada fundamentalmente en la capacidad que tienen determinados fluidos en estado supercrítico (FSC) de modificar su poder disolvente.

El poder disolvente de los FSC puede ser elevado, depende de las condiciones de presión y temperatura aplicadas que permitan la disolución selectiva de sustancias determinadas en el FSC. Las sustancias seleccionadas se separan fácilmente del fluido supercrítico. La extracción se realiza sin cambios de fase, simplemente variando las condiciones de presión y/o temperatura de los FSC.

2.3.1.1. Los fluidos supercríticos. Condiciones de operación

Los fluidos supercríticos son líquidos o gases en condiciones ambientales, llevados a unas condiciones operativas de presión elevada y temperatura moderada, por encima de su punto crítico. Su propiedad más importante es el elevado poder disolvente en estado supercrítico.

Como se observa en la figura siguiente, los tres estados de la materia están separados por líneas que representan los equilibrios sólido-líquido o de fusión, sólido-gas o de vaporización. También aparecen dos puntos característicos: el punto triple, donde coexisten los tres estados, y el punto

crítico, al final de la curva de vaporización, caracterizado por una presión crítica, P_c , y una temperatura crítica, T_c .

En el punto crítico dejan de existir las fases líquida y gaseosa como tales y aparece una nueva fase, la supercrítica, donde el poder disolvente puede ser bajo o alto, sin que se produzca un cambio de fase, sólo realizando pequeñas variaciones de presión y temperatura.

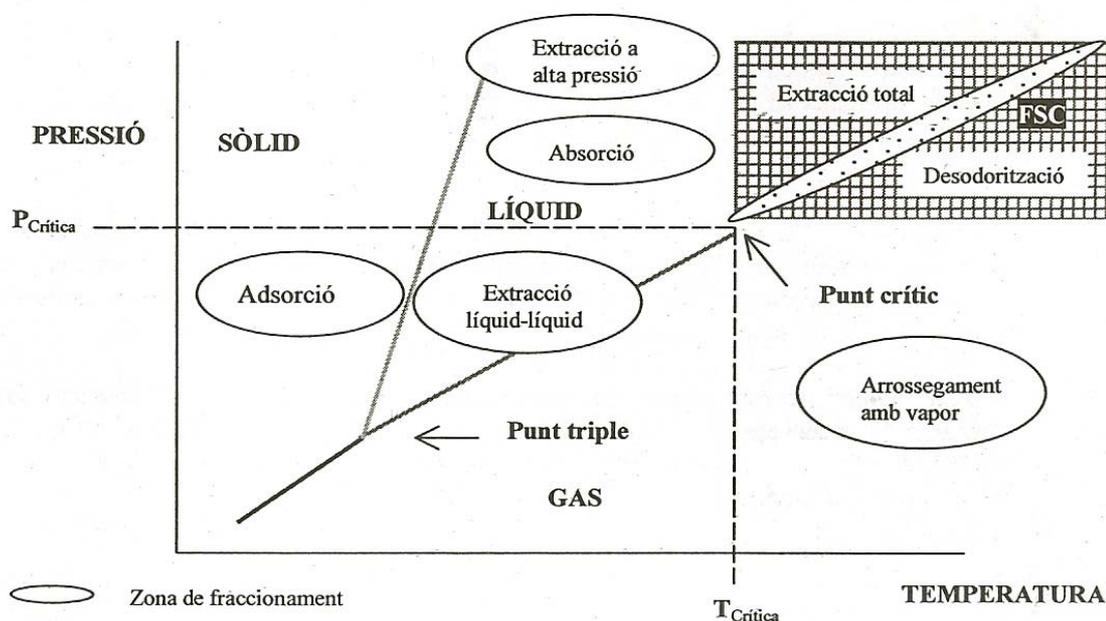


Fig.52- esquema del diagrama de presión-temperatura de los estados de la materia

- a) El poder disolvente de los FSC. La densidad: El poder disolvente de una sustancia pura depende en gran parte de su densidad. La densidad de los FSC puede ser modificada de forma continua, por tanto, también lo puede ser su poder disolvente.
- b) Transferencia de materia. Viscosidad y difusividad: La transferencia de materia de los FSC es elevada, cosa que permite una extracción rápida y

eficaz del extracto de su matriz. Esta viene definida por dos propiedades, que son la viscosidad y la difusividad. La viscosidad de los FSC tiene valores muy bajos, lo que facilita la entrada de estos en las matrices a extraer, y la difusividad muy alta, y esto le da un poder elevado de penetración y dispersión, que mejora el transporte del extracto por el FSC, y así se consigue una eficacia muy elevada de extracción.

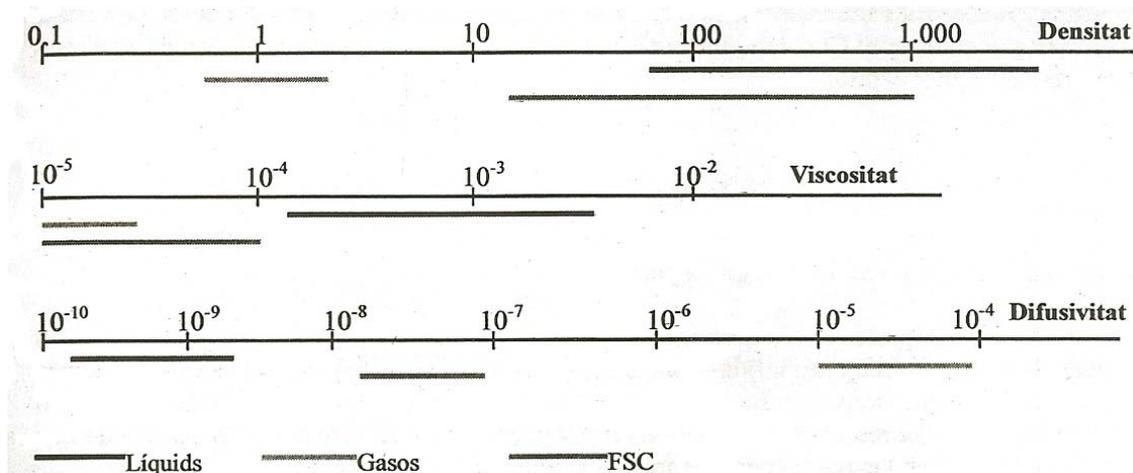


Fig.53- propiedades físicas de los fluidos

En la elección del tipo de FSC adecuado para una extracción concreta se han de considerar las propiedades críticas del disolvente y las características de la materia que se quiere extraer.

Los disolventes utilizados hasta ahora en la extracción supercrítica han estado diversos:

Fluido supercrítico	T_c (° C)	P_c (atm)	densidad crítica (g/cm³)
Metano	-82,6	45,4	0,162
Etileno	9,2	49,7	0,218
Dióxido carbono	31,0	72,8	0,469
Etano	32,2	48,2	0,203
Óxido nitroso	36,4	71,5	0,452
Propano	96,6	41,9	0,217
Amoníaco	132,4	111,3	0,236
n-hexano	234,2	29,3	0,233
Acetona	234,9	46,4	0,279
Metanol	234,4	79,9	0,272
Etanol	243,0	63,0	0,276
Agua	374,1	217,6	0,323

Tabla.13- Propiedades críticas de solventes utilizados como fluidos supercríticos

Como se puede comprobar, el campo de disolventes que se pueden utilizar cubre un intervalo amplio de temperaturas de operación, y varía considerablemente a medida que el tamaño y polaridad de estos fluidos varían.

Los compuestos químicos más utilizados como FSC son el propano y dióxido de carbono, porque presentan propiedades químicas más asequibles; el CO₂ es el más utilizado en la industria alimentaria.

2.3.1.2. Planta de extracción

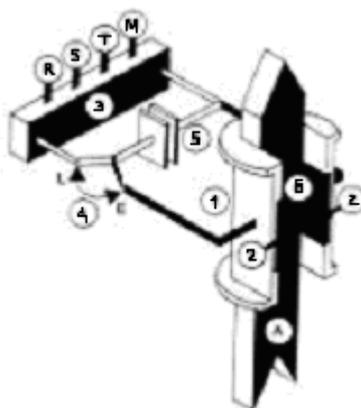


Fig.54- Diseño simplificado del equipamiento de PEF. (1) cámara de tratamiento; (2) Electrodos; (3) Generador de alto voltaje; (4) interruptor; (5) Capacitor; (6) Zona de descarga; (R, S, T, M) Puntos de conexión para fuente de suministro (Sitzmann, 1995).

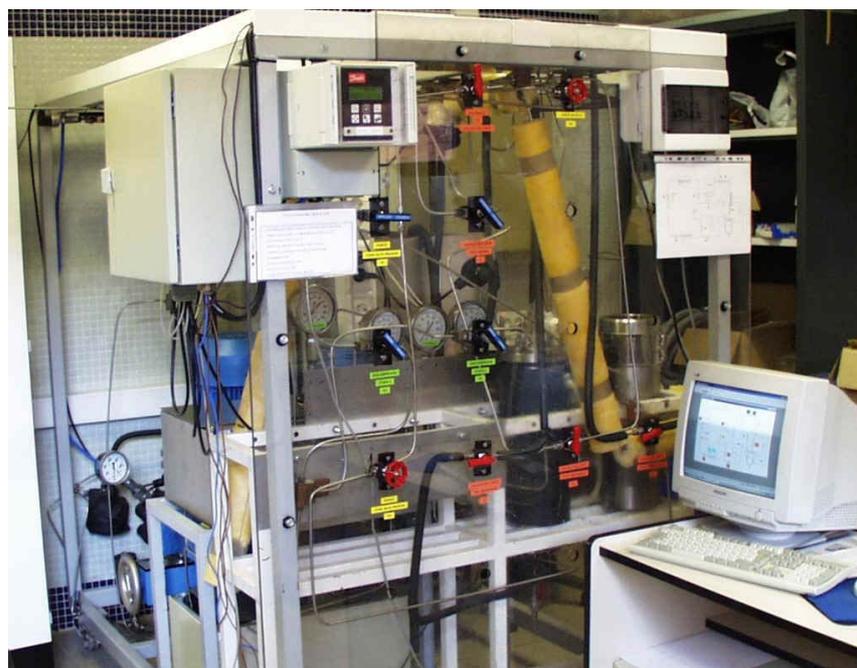


Fig.55- Planta Piloto Extracción FSC (extractor de 2 litros, especificaciones máximas de presión y temperatura: 70 MPa y 200°C)



Fig.56- Planta Piloto de Extracción con FSC (extractor de 2 litros, especificaciones máximas de presión y temperatura: 70 MPa y 200°C)

Básicamente, la planta de extracción esta integrada por los elementos siguientes:

-Extractor: es el recipiente donde se mezclan la materia prima y el FSC, en las condiciones determinadas de temperatura, presión, flujo y tiempo de contacto o de equilibrio. Este recipiente es capaz de resistir las presiones elevadas de operación de hasta 500 bares, y existe la posibilidad de recircular o no el FSC. El producto que queda en el recipiente es refinado, mientras que el FSC sale juntamente con el extracto hacia el separador.



Fig.57- Extractor con fluidos supercríticos Hewlett Packard SFE 7680T.

-Separador: es el recipiente donde se modifican las condiciones de operación respecto al extractor; normalmente se reduce la presión, para disminuir el poder disolvente del FSC, y así el extracto y el FSC quedan separados

-Compresor: se utiliza cuando es necesario recuperar el CO_2 y en procesos discontinuos en que se presuriza y se despresuriza continuamente. Generalmente se sitúa después de la fase de separación entre el extracto y el FSC incrementando la presión del FSC por encima del punto crítico para disminuirlo de nuevo en el extractor.

-Bombas: son los elementos que controlan todos los flujos de trabajo, modificando las presiones y las velocidades de circulación de los fluidos.

-Equipos de control y seguridad: son fundamentales en una planta de alta presión y temperatura.



Fig.58- Equipo dinámico de determinación de solubilidades de sólidos en FSC.

2.3.1.3. Procesos de extracción

- Extracción discontinua o por cargas:

Se realiza en procesos de extracción sólido-fluido, en que el sólido es la materia prima para la extracción. El procesamiento de los sólidos se puede realizar por cargas y descargas, sin posibilidad de flujo continuo. Así mismo, existe la posibilidad de hacerlo en semicontinuo, colocando diversos extractores en serie y en cascada que, mediante cargas y descargas alternativas, permite una extracción casi continua.

El proceso de extracción se desarrolla en los extractores, donde se carga la materia prima y se introduce el fluido supercrítico en las condiciones de temperatura y presión fijadas. Después de un tiempo de contacto se llega al equilibrio entre las fases y se abren las válvulas de salida, y en el extractor queda la materia prima ya extraída (refinación). La mezcla del extracto

deseado más el fluido supercrítico se conduce al separador y, mediante una descompresión se separan totalmente, ya que el FSC pierde drásticamente su poder disolvente.

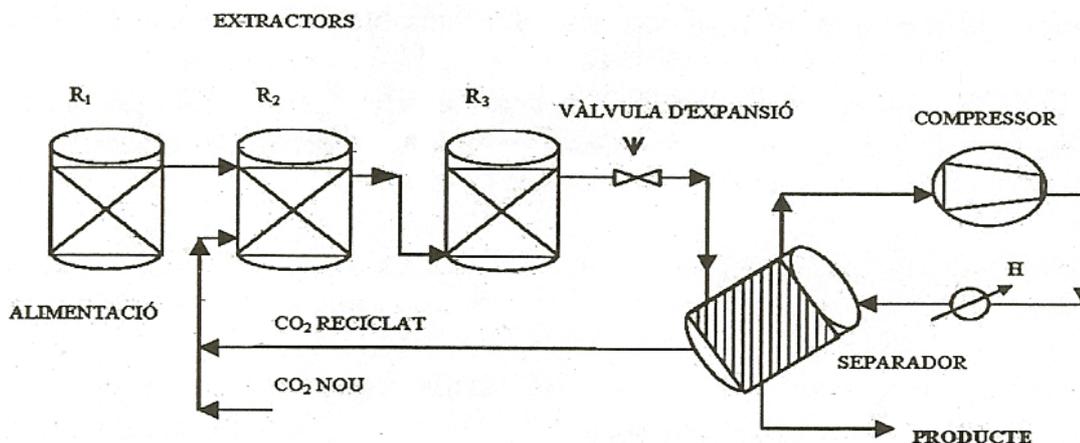


Fig.59- proceso simplificado de extracción supercrítica discontinua (sólido-líquido)

-Extracción continua o de flujo:

Se realiza en procesos de extracción líquido-líquido, en que la materia prima que se ha de extraer esta en fase líquida. En este sistema se eliminan los tiempos muertos de carga y descarga, la presurización y la despresurización y, por tanto, el procedimiento es más rápido y eficaz.

El proceso se realiza bombeando continuamente materia prima y FSC a contracorriente, que quedan en contacto el tiempo necesario para separar el componente deseado. El extracto queda solubilizado por el FSC, salen juntos del extractor y se expanden, y a través de una válvula de descompresión se reduce el poder disolvente del FSC, hecho que origina la precipitación del extracto en el separador, de donde se retira sin residuos

de disolvente ya que éste se evapora. El FSC es recomprimido y se envía de nuevo al extractor de manera que es reciclado.

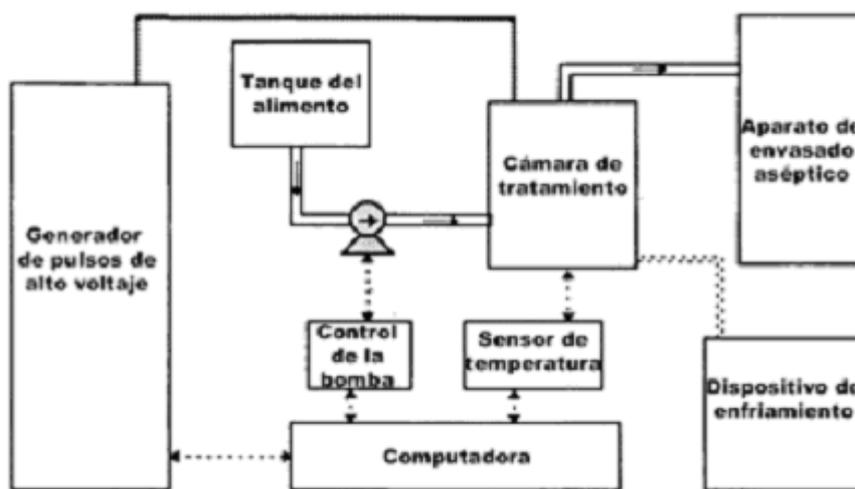
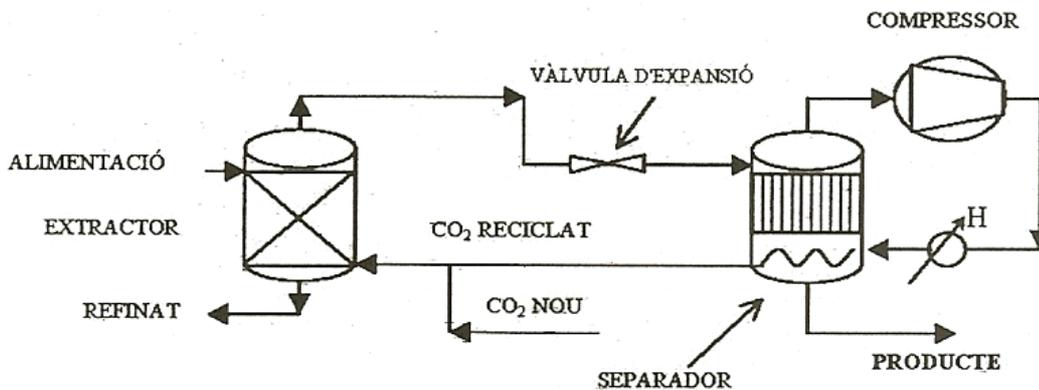


Fig.60- proceso simplificado de extracción supercrítica continua (líquido-líquido)

2.3.2. El dióxido de carbono supercrítico

2.3.2.1. Naturaleza y características básicas

El dióxido de carbono es un gas a temperatura ambiente, incoloro, con un débil olor pungente y de sabor ácido. Es más pesado que el aire y poco soluble en agua, y tiene unas características muy valoradas para su uso en a industria alimentaria, ya que no es tóxico, ni inflamable, y es químicamente inerte.

El CO₂ tiene ventajas añadidas sobre los disolventes orgánicos y los propios FSC para la ESC, ya que tiene presión y temperatura críticas accesibles, y bajo calor de vaporización, es abundante, económico y reciclable.

2.3.2.2. Propiedades como disolvente

El CO₂ en estado supercrítico (presión > 73,8 bar, temperatura > 31,06° C y densidad = 466 kg/m³) tiene un alto poder disolvente de sustancias apolares o ligeramente polares y de bajo peso molecular; muchas de estas sustancias son precisamente las responsables de los aromas y los sabores de los alimentos. Y cuando recupera la presión atmosférica no tiene propiedades disolventes, sino que se escapa del extracto sin dejar residuo. Generalmente, el extracto obtenido con CO₂ es de una calidad excelente, ya que al ser un gas inerte y utilizar temperaturas de trabajo moderadas no

reacciona con los constituyentes de los alimentos. Esto da lugar a un producto extraído o refinado donde el aroma, el color, la textura y el sabor no varían apreciablemente sobre el original y se consiguen extractos de gran pureza.

Las condiciones más frecuentes de aplicación en los procesos oscilan entre los 40 y los 80° C y entre los 200 y 350 bares, hasta que se agota el extracto.

La extracción de las sustancias se puede realizar fraccionadamente cuando estas presentan diferentes volatilidades, peso molecular o presión de vapor, simplemente variando las condiciones de temperatura y/o presión, ya que el poder disolvente del CO₂ se modifica, y se obtienen así diferentes fracciones de un producto

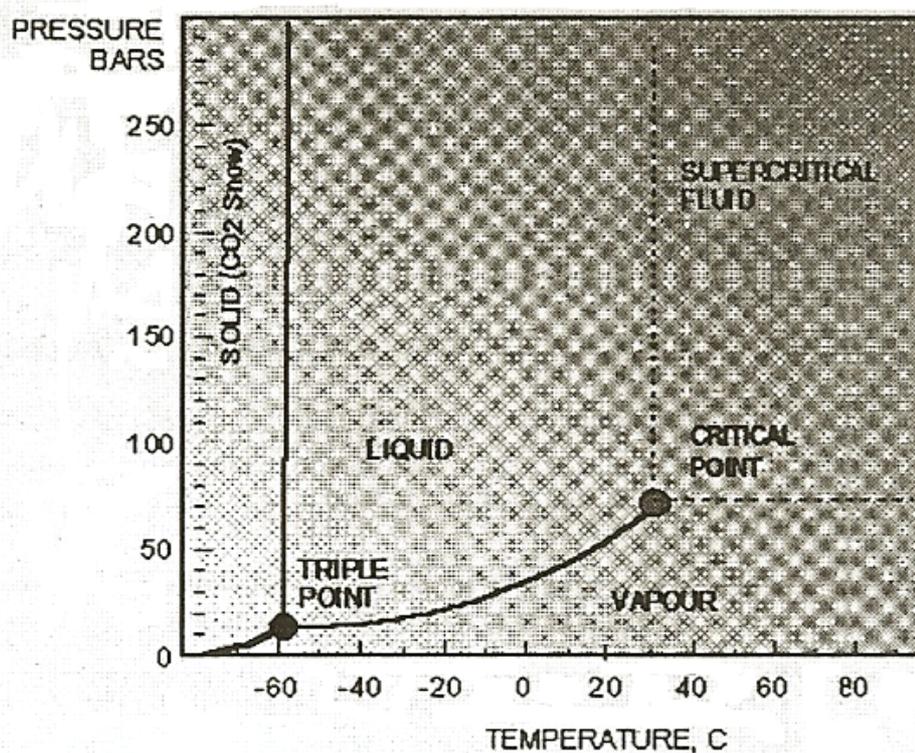


Fig.61- diagrama de fases del dióxido de carbono

2.3.2.3. Ventajas e inconvenientes del CO₂ en la ESC

La diferencia fundamental del CO₂ respecto de los disolventes orgánicos y la destilación es la alta calidad del producto obtenido, debido a la facilidad y rapidez de extracción.

Ventajas de la ESC con CO₂ supercrítico:

- Disolvente excelente de productos naturales como aromas, sabores, aceites y cafeína, entre otros
- Rapidez de extracción y separación de las fases, agotando prácticamente el extracto de su matriz
- No deja residuo a temperatura ambiente

- Tratamiento no agresivo de materiales termosensibles que permite una extracción de sustancias poco volátiles
- Facilidad de recuperación del disolvente y de productos que quedan libres de restos de disolventes
- El producto resulta inalterable y no tiene riesgo de ser tóxico
- Coste bajo de separación, ya que sólo se debe reducir la presión y/o la temperatura ligeramente
- Obtención de extractos puros y fraccionamiento de componentes similares modificando ligeramente las condiciones de trabajo

Inconvenientes de la ESC con CO₂ supercrítico:

- El CO₂ en estado supercrítico tiene bajo poder de extracción de componentes muy polares y de peso molecular superior a 400
- El procesamiento de productos sólidos, que son la mayoría de las ESC, se realiza en procesos discontinuos y, por tanto, comprimiendo y descomprimiendo continuamente
- La inversión es muy elevada, comparada con la extracción convencional
- La falta de datos de diseño y de costes para el dimensionamiento del proceso y la poca disponibilidad de equipos impiden un mayor desarrollo en este campo
- Se necesita un mantenimiento y una seguridad muy estrictas
- El uso de tecnología de alta presión requiere una instalación costosa y complicada

Muy solubles	Moderadamente solubles	Casi insolubles
Compuestos orgánicos poco o nada polares, de bajo peso molecular (<250)	Compuestos orgánicos polares y de peso molecular inferior a 400	Compuestos orgánicos polares y de peso molecular superior a 400
Sustancias muy volátiles responsables de aromas y sabores de alimentos	Sustancias poco volátiles	Sustancias no volátiles
Tioles, pirazinas, tiazoles, ácido acético, benzaldehído, hexanol, glicerol y acetatos	Agua, terpenos, ácido oleico, glicerol y lípidos saturados de cadena de hasta 12 carbonos	Proteínas, azúcares, polisacáridos, aminoácidos, sales inorgánicas, nitratos, ceras, etc

Tabla.15- Tabla de solubilidades de las sustancias en CO₂ supercrítico

2.3.3. Aplicaciones en la industria de bebidas

2.3.3.1.Extracción del lúpulo

Para la fabricación de cerveza se utilizan con mucha frecuencia los extractores de lúpulo, porque son más uniformes, estables, estandarizados y de volumen inferior, cosa que facilita la manipulación y el transporte. Estos extractos están compuestos de resinas blandas (humulonas y lupulonas) y aceites esenciales, que dan lugar a la amargura, el sabor y el aroma característicos de la cerveza.

Tradicionalmente, los extractos de lúpulo se han obtenido mediante disolventes orgánicos que se debían de separar por destilación, dejando todavía residuos, siempre inferiores a lo que está legislado. Pero con el

CO₂ supercrítico no hace falta la destilación y no se producen residuos y la extracción de humulonas es superior al mínimo necesario del 95% (es de casi el 99%).

Contenido (%)	Lúpulo inicial	Lúpulo final	Extracto CO₂	Grado extracto	Extracto comercial
Agua	6,0	5,4	7,0	-	8,0
Total resinas	30,3	4,3	90,0	89,9	88,5
Resinas suaves	26,6	1,3	84,4	96,5	82,0
α-ácidos (humulonas)	12,6	0,2	41,2	98,9	39,5
β-ácidos (lupulonas)	14,0	1,1	43,6	94,4	42,4
Resinas duras	3,7	3,0	5,2	-	6,5

Tabla.16- Análisis del lúpulo extraído con CO₂ (Hubert & Vitzhum, 1978)

Actualmente, más del 80% de la extracción de lúpulo se realiza con el CO₂ supercrítico.

La ESC de lúpulo con este método presenta las siguientes ventajas con respecto al método tradicional:

- El extracto del lúpulo queda totalmente libre de disolventes
- Los pesticidas utilizados en la agricultura no son extraídos, ya que se pueden extraer diferentes fracciones de diversa composición con una selectividad elevada
- No se producen oxidaciones en el proceso
- Los componentes más importantes, los α -ácidos o humulonas, no se polimerizan

El proceso de extracción necesita un tratamiento previo sobre el lúpulo, que consiste en un secado, una molienda y la formación de pequeñas bolitas, de densidad aproximada de $0,65 \text{ g/cm}^3$, para conseguir rendimientos superiores.

En la extracción, el CO_2 supercrítico se mezcla con el lúpulo en el extractor, en condiciones óptimas de 40° C y 200 bares (hasta 80° C si la extracción es de agotamiento)

La separación del extracto y el fluido supercrítico se consigue al hacer pasar por una válvula de expansión que realiza la descompresión, manteniendo la temperatura por encima de la temperatura crítica, T_c , del gas, lo que causa la reducción de la densidad de éste y, por tanto, la separación del extracto. Éste extracto tiene una composición total de más cantidad y calidad que el que se obtiene con los métodos tradicionales de extracción con disolventes.

Las plantas de ESC actuales permiten la extracción de lúpulo tanto con CO₂ subcrítico como supercrítico; con el primero se consigue un extracto de primera calidad y con el segundo un agotamiento total del producto.

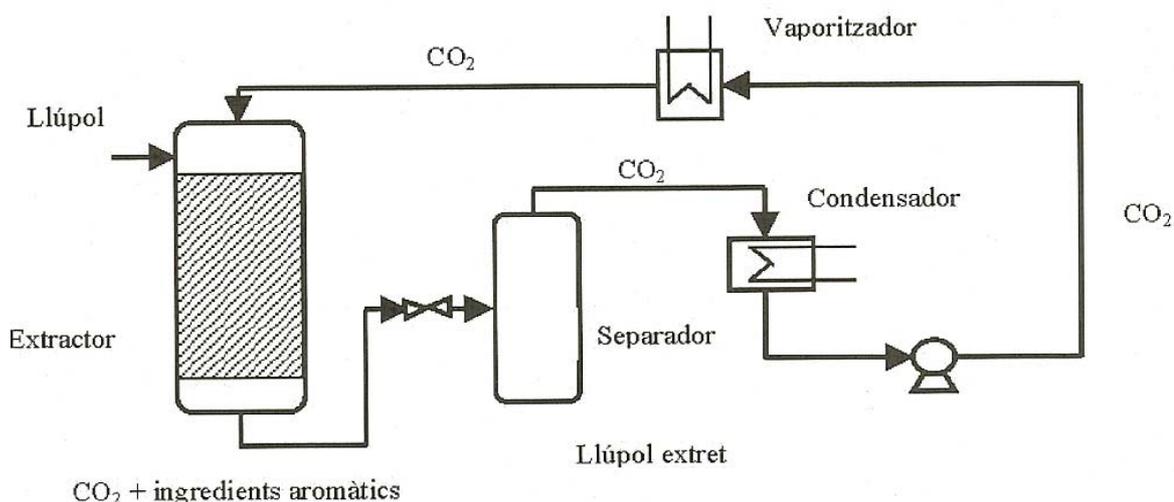


Fig.62- planta básica de extracción de lúpulo

2.3.3.2. Desalcoholización de bebidas alcohólicas

El incremento de demanda de bebidas con bajo contenido en alcohol pero que conserven su sabor y aroma característicos ha llevado al desarrollo de nuevos métodos alternativos a la extracción convencional de etanol, entre los cuales se encuentra la ESC con dióxido de carbono.

El contenido final de alcohol con ESC en estos productos oscila entre un 0,5 y un 1% en volumen. Y a tenido éxito, a título experimental, sobretodo en las aplicaciones en bebidas de bajo contenido alcohólico como la cerveza, sidra, vino y licores de aromas.

Se pueden utilizar diferentes métodos para reducir el contenido alcohólico, los cuales se clasifican en dos categorías:

- a) Producción limitada de alcohol: se consigue limitando el proceso de fermentación, pero las bebidas no desarrollan sus características organolépticas totalmente
- b) Eliminación del alcohol después de la fermentación por destilación o técnicas con membranas (osmosis inversa y diálisis). En este caso, algunos componentes pueden ser desnaturalizados o eliminados y alterar el sabor y aroma de las bebidas. La destilación necesita una cantidad mayor de energía que la ESC.

Las ventajas que presenta la ESC con CO₂ son las siguientes:

- La eficacia de la separación es muy superior que en la destilación, por tanto, se aumenta el rendimiento energético
- Las temperaturas de extracción son moderadas (entre 15 y 40° C); por tanto, se respetan los componentes termolábiles, que son parte importante del aroma y el sabor
- Las sales y el agua no son eliminadas, las proteínas y los carbohidratos no se extraen ni desnaturalizan, y la recuperación de aromas es buena, y así se consigue un producto de alta calidad, muy similar al original.

El proceso de extracción del etanol de una bebida con este método se realiza normalmente en continuo, sin tiempos muertos y con menos costes

que el sistema discontinuo. Se realiza en unas columnas extractoras de etapas de contacto múltiple donde se introducen, bombeados continuamente, el CO₂ supercrítico y la bebida alcohólica. La bebida fluye descendiendo y se pone en contacto con la corriente ascendente del CO₂.

Durante el contacto entre la fase rica en CO₂ supercrítico y la disolución etanol-agua, se produce una extracción preferente del etanol.

Para la separación del extracto se expande a través de una válvula de descompresión que hace bajar drásticamente el poder disolvente del CO₂ el cual pasa a estado gaseoso, y se produce la precipitación automática del etanol en el separador.

Las condiciones óptimas para la extracción del etanol dependen del tipo de bebida, pero generalmente los valores oscilan entre los 80 y los 120 bares y los 15 y 40° C.

Producto	Presión (bar)	Temperatura (° C)
Vino	100	40
Cerveza	80-120	15-40
Vinagre	100	40
Sidra	80-250	20-40
Bebidas de alto % alcohólico	90-150	15-40

Tabla.17- Condiciones de presión y temperatura para desalcolización

Si la temperatura es muy elevada en el proceso de extracción existe el riesgo de descomposición de los componentes aromáticos y de formación de carbonato de etilo, por eso nunca se debe sobrepasar la temperatura de los 40° C.

También se puede aplicar la ESC a productos de fermentaciones en que el interés exclusivo es la obtención de etanol, donde se extrae el 100% de alcohol. Las condiciones de extracción son extremas, ya que la presión está entre 60 y 300 bares y la temperatura entre 10 y 100° C.

Existen variantes del método básico, en las cuales el proceso se realiza en tres fases:

- 1) Se extraen los componentes del aroma y el sabor de la bebida alcohólica con CO₂ supercrítico a presiones bajas y flujo pequeño o con carbón activo
- 2) Una vez desnaturalizada y desodorizada, se extrae el alcohol por ESC como en el método básico
- 3) Al producto refinado obtenido, sin alcohol ni aroma ni sabor, se añaden los aromas y los sabores extraídos en la primera fase

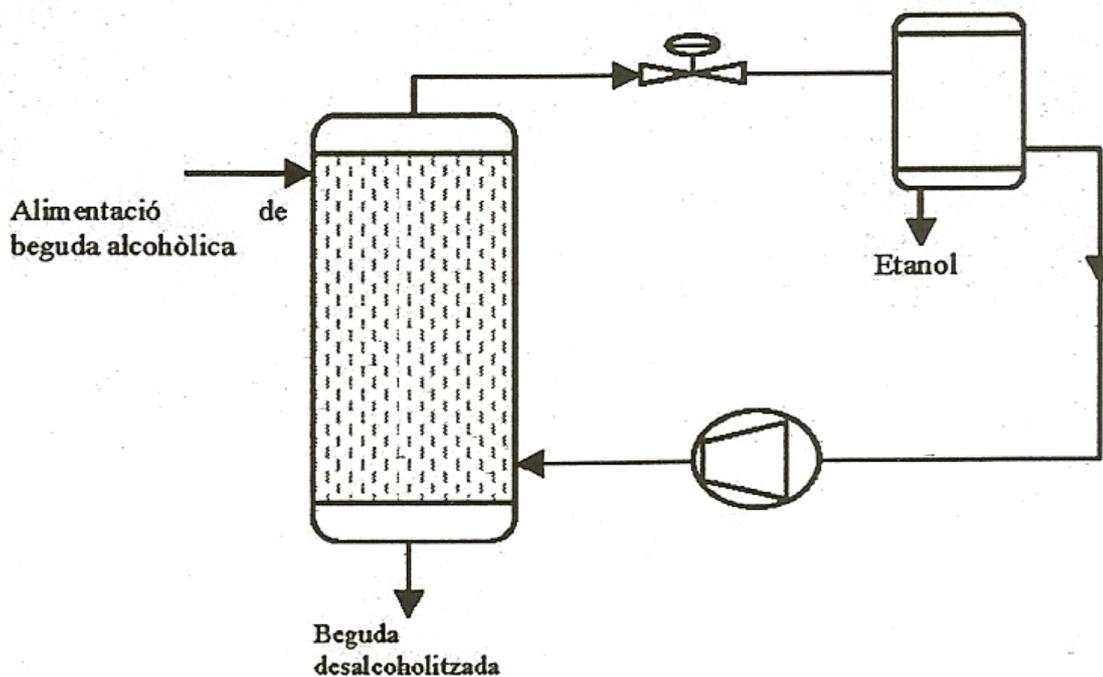


Fig.63- diagrama de proceso continuo de extracción de etanol de disolución acuosa

Desalcoholització de begudes				
Vi <i>Zobel et al.</i> (1990)	Extracció d'etanol	-Extractor: columna empaquetada (a contracorrent)	-Extracció: •P: 75-300 bar •T< 40°C -Separació: descompressió	-Es poden obtenir begudes amb menys del 0,5% d'alcohol i bona qualitat sensorial -Si la temperatura és molt alta en el procés d'extracció hi ha el risc de descomposició dels components aromàtics i formació de carbonat d'etil. Per això mai no se sobrepassa la temperatura de 40°C
Vi <i>Carbonell</i> (1991)	Extracció d'etanol		-1a etapa: Extracció dels components d'aroma i sabor amb carbó actiu -2a etapa: Extracció de l'etanol amb CO ₂ SC •P: 75-300 bar •T<40°C	-L'última etapa del procés consisteix a afegir al producte refinat (sense alcohol, aroma ni sabor) les aromes i els sabors extrets a la 1a etapa -S'obté un vi amb un 1% d'etanol
Sidra <i>Medina i Martínez</i> (1993)	Extracció d'etanol	Columna a contracorrent	-1a etapa: Extracció de l'aroma •P: 250 bar •T: 40° C -2a etapa: Extracció de l'etanol •P: 250 bar •T: 40°C	-L'extracte aromàtic és reincorporat al refinat desalcoholitzat -Alguns compostos aromàtics no són extrets a la 1a etapa, cosa que no és un problema ja que queden al producte final
Cervesa <i>Natex</i> (1997)	Extracció d'etanol		-Extracció: •P: 80-120 bar •T: 15-40°C	-S'aconsegueix una cervesa amb un contingut molt baix d'alcohol i amb bona qualitat d'aroma, però és difícil aconseguir una aroma igual a la de la cervesa original

Obtenció d'extractes de llúpul				
Llúpul <i>Langezaal et al. (1990)</i>	Extracció d'humulones, lupulones i olis essencials		-Mostra: mólta amb formació de <i>pellets</i> -Extracció: •P: 200 bar •T: 40°C	-Atesa l'alta selectivitat de l'ESC no s'extrauen els pesticides utilitzats en el cultiu del llúpul -No es produeixen alteracions de les humulones, com oxidacions o polimeritzacions -Es pot realitzar un fraccionament de l'extracte durant la descompressió -S'obté un extracte amb gairebé el 99% de les humulones

Fig.64- condiciones de operaci3n

2.3.4. Situaci3n actual

La extracci3n con fluidos supercr3ticos en la industria alimentaria y con CO₂ como disolvente est3 plenamente establecida, sobretodo en procesos de descafeinado de caf3 y t3, extracci3n de lúpulo, extracci3n de aromas y sabores de especias y hierbas arom3ticas y separaci3n del colesterol de la mantequilla, la carne y la yema del huevo. Tambi3n est3 siendo objeto de numerosas investigaciones y desarrollos.

La ESC es una t3cnica de separaci3n emergente, ya que es respetuosa con el medio ambiente y puede sustituir progresivamente muchos de los procesos de extracci3n realizados con disolventes org3nicos, que son en general potencialmente t3xicos, inflamables y tienen un precio elevado.

La ESC presente un futuro esperanzador en procesos de extracci3n y separaci3n de principios activos de productos naturales entre otras cosas porqu3 el fluido supercr3tico se puede eliminar de forma r3pida y total (s3lo se debe variar la presi3n y la temperatura) pero es necesario desarrollar

sistemas continuos de extracción con más capacidad de trabajo porque esta técnica resulte competitiva.

Como resumen de ventajas:

- 1) excelente calidad y pureza de los productos
- 2) rapidez de extracción y separación de las fases, con agotamiento total de la sustancia a extraer, reduciendo los costes de separación
- 3) el extracto se obtiene libre de residuos de disolvente
- 4) la posibilidad de modificar la selectividad y capacidad de los disolventes, variando las condiciones de operación da un amplio margen de uso de cada disolvente y la posibilidad de fraccionar los diferentes extractos durante la ESC
- 5) el económico coste de separación
- 6) La tecnología de alta presión para la ESC se está desarrollando actualmente, siendo cada vez más segura y económica. Aunque el equipo es costoso, se puede rentabilizar con la excelente calidad del producto
- 7) Existen otras aplicaciones no extractivas con FSC que tienen un futuro esperanzador en la industria alimentaria como: la esterilización, la cromatografía supercrítica, la nucleación homogénea de partículas, inactivación o activación de enzimas y la oxidación total de aguas residuales y residuos industriales de todo tipo.

Pero la expansión de los procesos ESC está condicionada por los siguientes inconvenientes anteriormente citados:

- 1) su rápida expansión se encuentra limitada a que esta técnica de separación necesita la experimentación en plantas piloto para diseñar después el proceso a escala industrial
- 2) la confidencialidad de las empresas, junto con la proliferación de patentes, representan un obstáculo para la expansión de este método
- 3) la inversión inicial en equipo es muy superior que para la extracción convencional de disolventes o la destilación, aunque se amortice a largo termino
- 4) de momento sólo es rentable procesar extractos de elevado valor añadido. Así el coste de la materia prima debe de ser muy inferior que el beneficio que genere el extracto obtenido

2.4. PULSOS ELÉCTRICOS DE ALTA

INTENSIDAD

2.4. Pulsos eléctricos de alta intensidad

2.4.1. Introducción

La aplicación de pulsos eléctricos de alta intensidad de campo es una técnica desarrollada para conservar alimentos sin tener que emplear un proceso térmico, a fin de obtener un producto de calidad similar al fresco. Aunque aún está poco desarrollada, cada vez esta siendo más investigada, ya que aunque los procesos térmicos de conservación son muy eficaces para conservar alimentos, inactivar enzimas y microorganismos, suelen tener efectos negativos en las propiedades organolépticas y pueden comportar una pérdida de nutrientes termolábiles de los alimentos.

En esta técnica se aprovecha la propiedad por la cual los alimentos fluidos, que constan principalmente de agua, además de otros nutrientes como vitaminas, minerales, lípidos, etc, son grandes conductores de la electricidad gracias a las altas concentraciones iónicas y por su capacidad de transporte de cargas eléctricas.

La utilización de esta técnica comenzó en el año 1924, cuando Beattie y Lewis demostraron el efecto letal de las descargas eléctricas sobre microorganismos al aplicar un voltaje de 3000-4000 V a un alimento. Fetterman, en 1928, y Getchell en 1935 combinaron la temperatura y la electricidad para pasteurizar leche y inactivar bacterias. Entre estas fechas además ya se utilizó el corriente

eléctrico para generar el calor necesario para la pasteurización de unos 200 millones de litros de leche.

1967 es el año en que Sale y Hamilton hacen sus primeros estudios para inactivar microorganismos mediante campos eléctricos homogéneos de alto voltaje, realizando muchas observaciones sometiendo a suspensiones de microorganismos a campos eléctricos de hasta 25 000 V/cm en pulso de 2-20 μ , viendo que la estructura de la membrana celular presentaba poros irreversibles cuando se aplicaba un potencial a través, deduciendo que existe un Potencial Crítico para inactivar bacterias, que depende de la forma y tamaño de estos (Hülshager et al. 1983, Zimmermann et al. 1974).

Estudios posteriores mostraron que la destrucción tenía relación con la deformación o rotura de las paredes celulares y no por un desprendimiento de calor producido por efecto Joule.

Sale y Hamilton, en 1968, observaron que este fenómeno de inactivación dependía de dos factores:

- La intensidad del pulso
- El tiempo de tratamiento

No obstante, existen otros factores que hacen variar la sensibilidad de los microorganismos, como su fase de crecimiento. Las fases de crecimiento logarítmico son más sensibles a este tratamiento que las estacionarias, como

corroboró Pothakamury en 1996, empleando E. coli. También se estudió la influencia del estado fisiológico de los microorganismos y se observó (Wouters, 1999) que a menor tiempo de incubación mayor inactivación.

Vega et. al. (1996) observaron que la velocidad de inactivación dependía de la fuerza iónica del medio y del pH. Al tratar con pulsos de 55000 V/cm leche inoculada con E. coli vieron que el proceso era más efectivo a pH bajos y que al aumentar la fuerza iónica disminuía la inactivación.

La temperatura también es un factor a tener en cuenta, ya que a mayor temperatura mayor es la inactivación, según Zhang et. al, 1994.

2.4.2. Principio físico

Esta técnica se basa en la deformación o destrucción de la pared celular al aplicar un campo eléctrico, que da lugar a un potencial transmembrana. Al llegar éste a un valor determinado específico origina poros (irreversibles o reversibles, dependiendo de la intensidad del campo) que facilitan la permeabilización de la membrana.

La destrucción de microorganismos depende de la intensidad del campo, del tiempo aplicación (A de pulso \times n° pulsos), temperatura tratamiento, conductividad, pH, fuerza iónica del alimento, tipo, concentración y etapa de crecimiento del microorganismo.

Los efectos de aplicar una descarga eléctrica sobre un alimento situado entre dos electrodos son:

- Destrucción mecánica de la membrana al aplicar descarga eléctrica de pulsos cortos del orden de la micra y 20 000-80 000 V/cm
- Electrólisis de sustancias, dependiendo de la composición del alimento y del material del electrodo.
- Calor producido por efecto Joule (no responsable de la destrucción, pero lo favorece)

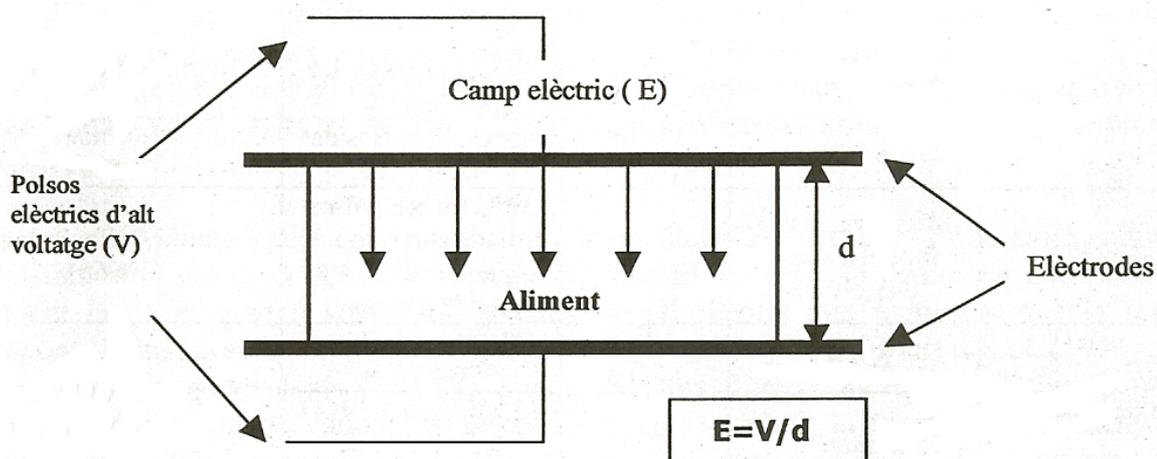


Fig.65- aplicación de pulsos eléctricos de AI sobre alimentos

2.4.3. Propiedades eléctricas de los alimentos

Los alimentos son los conductores de las descargas eléctricas, actuando como una “resistencia óhmica” al paso de la corriente; dependiendo de la longitud, sección, material y temperatura. Cada material, y por tanto, cada alimento tiene una resistividad ρ y una conductividad σ concretas. Así:

$$R = d / \sigma \cdot A = \rho \cdot d / A$$

Siendo “A” el área del electrodo en m^2 , “d” la distancia entre los dos electrodos en m, “ σ ” la conductividad en $siemens \cdot m^{-1}$ y “ ρ ” la resistividad en $\Omega \cdot m$.

Así, teniendo en cuenta la ley de Ohm, $r = V / I$, si aumenta la conductividad disminuye su fuerza iónica y disminuye por tanto la destrucción microbiana y viceversa. Pero, si aumenta la conductividad acompañada de un aumento de temperatura, se observa un efecto sinérgico y más inactivación.

El alimento no sólo es una resistencia, sino un “condensador” que puede almacenar una cantidad de carga Q y una capacidad de $C = Q / V$

La constante dieléctrica relativa de un alimento cuando se comporta como condensador, es la relación entre la capacidad del alimento y la del aire o vacío.

2.4.4. Tecnología y equipos

2.4.4.1. Componentes

Un equipo de procesamiento consta de un generador de pulsos de alto voltaje (generador de corriente de alto voltaje, condensador e interruptor), una cámara de tratamiento, sistema de control de datos del proceso, sondas de temperatura, voltaje y corriente, un equipo de envase aséptico y un sistema de refrigeración de la cámara

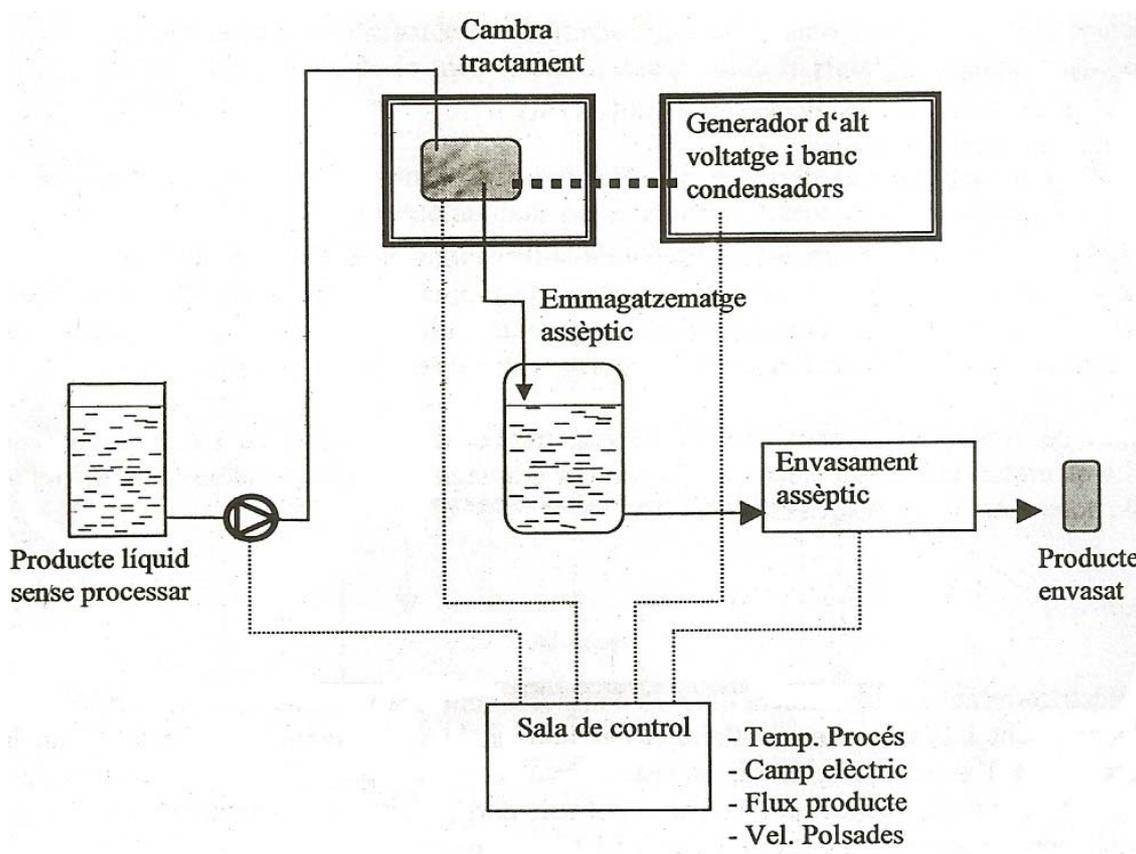


Fig.66- esquema de planta de tratamiento

El generador es el que proporciona al condensador corriente eléctrica continuo a partir de una corriente alterna de la red. Interesan tanto su intensidad como la diferencia de potencial máxima que carga al condensador.

Se puede elegir utilizando un transformador que eleva la tensión alterna de la red hasta una tensión determinada y la convierte en continua con un rectificador, o bien utilizando corriente alterno de alta frecuencia, 100 Hz, para cargar el condensador, obteniendo mayor velocidad de repetición de pulsos. Interesa cargar al condensador con la máxima diferencia de potencial e intensidad posibles, sin llegar a encarecer excesivamente el equipo (40 000 V).

El condensador almacena la energía cinética que descarga a la cámara de tratamiento a través de un interruptor. Hay que tener en cuenta su velocidad de almacenamiento y su diferencia máxima de potencial a la cual puede trabajar. El almacenaje de energía viene determinado por el tipo de pulso aplicado, la superficie de los electrodos y si se trabaja de forma continua o discontinua.

El interruptor controla el paso de corriente eléctrica del condensador a la cámara, siendo sus principales características a estudiar su tiempo de conmutación, intensidad máxima que puede pasar y voltaje máximo. El tipo de interruptor condiciona el resto del equipo y se pueden clasificar en:

- De descarga total: no permiten la interrupción de la corriente una vez abiertos y provocan la descarga total del condensador. Proporcionan pulsos de onda exponencial. Son los más utilizados ya que no necesitan un diseño complicado de un circuito cerrado por donde debe circular gran cantidad de energía eléctrica, tienen un rango amplio de trabajo, de 20-100 kV y 20-100 kA. Su desventaja es su corta vida media y su bajo tiempo de conmutación.
- De descarga parcial. Permiten interrumpir el paso de la corriente una vez abiertos. Aquí están incluidos los transistores de alta potencia. Proporcionan pulsos de onda cuadrada. Sus ventajas son su larga vida media, bajo precio y simplicidad. Su desventaja principal es su limitado rango de trabajo, requiriendo conexiones de diversos transistores en serie.

El sistema de control de datos permite la regulación y registro de parámetros del proceso. Debe registrar la forma, número y voltaje del pulso, intensidad de corriente, temperatura de tratamiento, temperatura de entrada y salida de la cámara, flujo de presión en caso de proceso continuo, frecuencias de pulsos, tiempo de tratamiento... Estos parámetros se registran y controlan en ordenadores. Se utilizan osciloscopios como sondas de control de temperatura, voltaje y corriente.

La cámara de tratamiento consta básicamente de dos electrodos, entre los que se sitúa el alimento y dónde se aplican los pulsos creando un campo eléctrico entre ellos. Uno de los electrodos está conectado al condensador a través del

interruptor y el otro lo está a tierra, y están separados unos 1-10 mm por un material aislante. El diseño de la cámara de tratamiento debe permitir el tratamiento uniforme del alimento con el mínimo incremento de temperatura, con lo que se hace necesario un sistema de refrigeración o usar una baja frecuencia de los pulsos, y debe evitar el fenómeno de electrólisis que provocaría el deterioro del alimento. Los materiales de la cámara dónde se sitúa el alimento poderse limpiar y esterilizar fácilmente y no deben tener interacciones con el alimento.

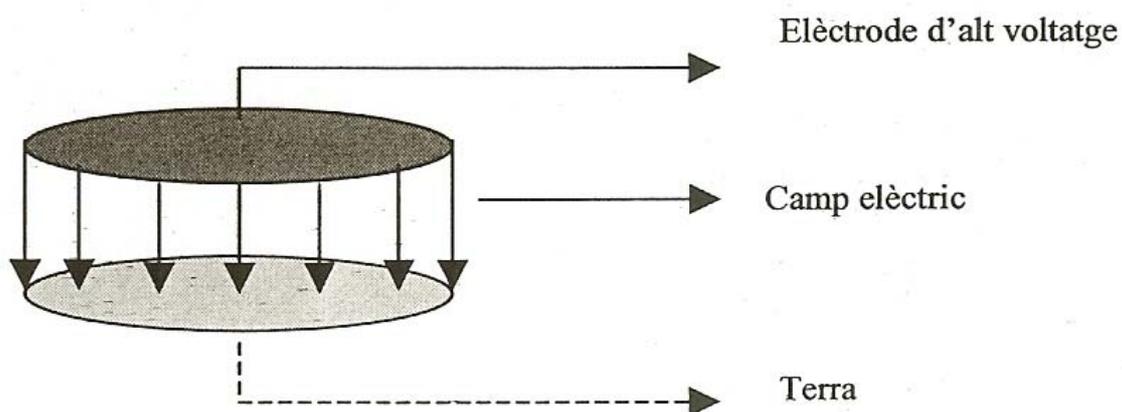


Fig.67- representación esquemática de configuración de placas paralelas

2.4.5. Tipos de cámara

2.4.5.1. Cámaras estáticas

Son de flujo discontinuo, el alimento permanece en la cámara durante todo el tratamiento. Se utilizan en el laboratorio. Son fáciles de alimentar, de limpiar y esterilizar, tienen una gran uniformidad de campo y eliminan las burbujas de aire durante la alimentación.

Existen cámaras estáticas abiertas que constan de dos láminas paralelas separadas por un material aislante y que permiten una mejor alimentación y vaciado de producto, no se forman burbujas de aire y el espacio entre electrodos es fácilmente modificable. Se ha de tener cuidado con el fenómeno de electrólisis o ruptura dieléctrica (arco eléctrico) originado por un exceso de corriente, que aumenta demasiado la temperatura y provoca la formación de gases y deterioro de alimento.

Las cámaras cerradas evitan este problema y constan de láminas circulares de acero inoxidable muy bruñido para minimizar emisiones de electrones y evitar el arco eléctrico, separadas por material aislante que cierra la cámara herméticamente. Eso sí, la alimentación es más complicada y a menudo es necesario hacer el vacío para evitar la formación de burbujas de aire.

- Cámara de Sale y Hamilton. Consta de un separador de polietileno en forma de U entre electrodos de carbón soportados por placas de latón.

Su alimentación es variable según la distancia entre los separadores. El control de temperatura se realiza por circulación de agua a través de las placas de latón. El máximo campo eléctrico aplicado es de unos 30 000 kV/cm y los pulsos son de onda cuadrada de amplitud de 2 y 20 μ , con una velocidad de repetición de 1 pulso/s

- Cámara de dunn y Pearlman. Se utiliza para alimentos líquidos. Consta de dos electrodos de acero inoxidable y un separador cilíndrico de nylon. Tiene un banco de seis condensadores con una capacitancia de 0,4 μ F cada uno, dos resistencias de 400 k Ω , un conmutador, un relé de descarga, un monitor de corriente y una sonda de alto voltaje. La alimentación se realiza a través de un orificio en uno de los electrodos.
- Cámara de Grahal. Consta de electrodos de carbón-latón y un separador de plexiglas de 0,5-1,2 cm, con un área efectiva de 50 cm². no dispone de sistema de refrigeración y el máximo campo eléctrico es de 30 kV.
- Cámara de la Washington State University (WSU). Consta de electrodos de placas paralelas de acero inoxidable en forma de discos bruñidos, separados por un aislante de polisulfona, con una distancia entre electrodos de 0,51-0.91 cm, con un área efectiva de 27 cm² y un volumen de tratamiento de 12,5 o 25 ml. Tiene un sistema de enfriamiento compuesto por camisas internas en los electrodos por donde circula el agua o el refrigerante empleado. La alimentación se efectúa a través de un orificio en los electrodos.

- Cámara de Mizuno y Hori.
 1. Cámara placa-placa. Consta de dos electrodos de aluminio de placas paralelas separadas por aislante de plexiglas. Su dimensión es de 10 mm de longitud, 8 mm de diámetro interno y 0,5 ml de volumen.
 2. Cámara aguja-placa. Electrodo de acero inoxidable de aguja fijada en una placa de plexiglas en la parte superior de la cámara. La aguja sobresale unos 0,5 mm de la superficie con un radio de curvatura de 0,1 mm. La parte inferior tiene un electrodo de acero inoxidable de placa separado de la aguja unos 9,5 mm. Tiene una longitud de 30 mm y una capacidad volumétrica de 8,5 ml.
 3. Cámara varilla-varilla. Consta de dos electrodos de acero inoxidable de varilla de 4 mm de diámetro, con un extremo de forma cónica de 0°, en una superficie de PVC de 6 mm de grosor. Un electrodo en la parte superior y el otro en la inferior, separados por sus extremos por 3 mm de distancia.

2.4.5.2. Cámaras continuas

Se suelen usar a escala de planta piloto y a escala industrial. Sus características son similares a las anteriores pero además deben permitir el flujo no laminar para crear un tratamiento homogéneo. Tienen un diseño similar a las cámaras estáticas cerradas, pero no permiten la entrada ni la salida del alimento tratado durante el proceso.

- Cámara de Dunn y Pearlman. Consta de dos electrodos de placas paralelas con un espaciador dieléctrico. Los electrodos no están en contacto directo con el alimento sino que están recubiertos de membranas permeables de conducción iónica. Un electrolito produce la conducción iónica entre electrodo y membrana, y permite eliminar los productos producidos por electrolisis. El equipo consta además de un sistema de calentamiento y refrigeración del alimento y otro sistema de desgasificación para eliminar burbujas de aire antes de entrar en la cámara. Existe una variación de ésta cámara con diversas zonas de depósitos entre electrodos aislados por espaciadores dieléctricos que reducen y aumentan el diámetro de paso, de forma que las zonas donde se reduce el diámetro el campo aplicado es mayor y viceversa.
- Cámara continua de la WSU. Es una modificación de la cámara estática de la WSU. Su volumen es de 8 o 20 ml, la distancia entre electrodos es de 0,51 o 0,91 cm, el caudal volumétrico es de 6 o 2000 ml/min. El campo eléctrico tiene una intensidad de 80 000 V / cm, una amplitud de pulso de 0,5-5 μ s y una velocidad de repetición de pulsos de 0,1-10 Hz.
- Cámaras continuas coaxiales. Existen dos: la de la WSU y la de Bushnell. La primera consta de una superficie de electrodo cilíndrico que proporciona un campo eléctrico de dentro hacia fuera de forma que se incrementa el campo eléctrico en la zona de tratamiento y reduce las intensidades de campo en el resto de la cámara. Es fácil de construir, tiene un diámetro exterior de 12,7 cm, una altura de 20,3 cm y un caudal volumétrico de 1-2 l/min. La distancia entre electrodos es de 0,6 cm y el volumen de tratamiento es de 29 ml. Consigue una mejor

distribución del campo eléctrico, que no es uniforme y depende de la ubicación de la cámara, y proporciona un flujo de fluido uniforme. La superficie de los electrodos es muy grande y necesita un generador de pulsos de alto voltaje con gran potencia. La segunda, la de Bushnell, consta de un electrodo cilíndrico interior rodeado por un electrodo cilíndrico exterior, y el alimento circula entre ellos. La relación longitud-diámetro debe ser baja.

2.4.5.3. Cámaras de campo eléctrico convergente

La cámara de Matsumoto consta de electrodos de disco separados por placas de teflón de 1 cm de grosos. El alimento se introduce a través de un orificio en la placa de teflón y se dirige hacia una zona del campo eléctrico concentrado donde se aplica una alta intensidad de campo. Se mantiene una densidad de corriente en la interfase líquida del electrodo para evitar la electrolisis y la formación de burbujas de aire.

2.4.6. Generación de pulsos con diferente onda

El proceso de descarga del condensador que origina el pulso de tensión elevada sobre la cámara puede tener varias formas: de caída exponencial, de onda cuadrada, oscilatoria y en el caso que se combine o no la polaridad de la descarga, se tienen pulsos bipolares o unipolares respectivamente. Los más utilizados son los de caída exponencial y los de onda cuadrada.

2.4.6.1. Pulsos exponenciales

El voltaje aumenta hasta cierto valor y después disminuye exponencialmente. El alimento se somete a un voltaje máximo durante un corto período de tiempo. Debido a la variación constante de la diferencia de potencial, se considera la amplitud del pulso como el tiempo durante el cual el voltaje es superior al 37% del valor máximo conseguido en la descarga.

Para generar estos pulsos son necesarios un subministrador de potencia DC y un banco de condensadores en serie con una resistencia de carga R_c .

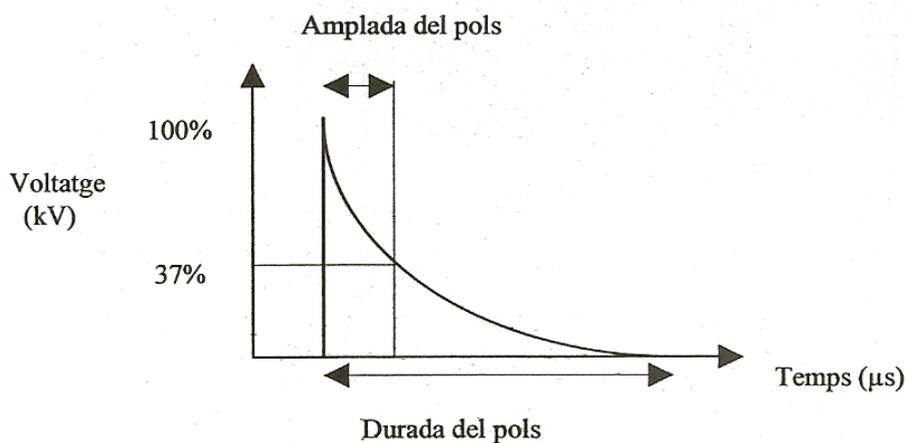


Fig.68- gràfico de onda exponencial

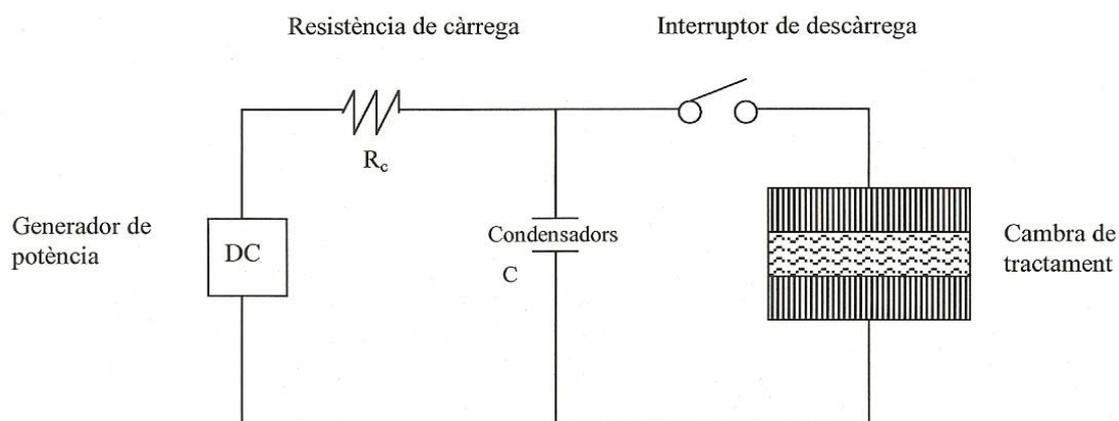


Fig.69- circuitó simplificado para generaci3n pulsos onda exponencial

2.4.6.2. Pulsos de onda cuadrada

En un inicio se produce un aumento brusco de voltaje hasta un valor determinado y durante un tiempo determinado se mantiene este diferencial y después disminuye hasta un voltaje próximo a cero.

Estos pulsos son más difíciles de generar que los anteriores, pero ahorran más energía y se enfrían más fácilmente. Se necesita una línea de transmisión de alto voltaje conectada a una carga opuesta.

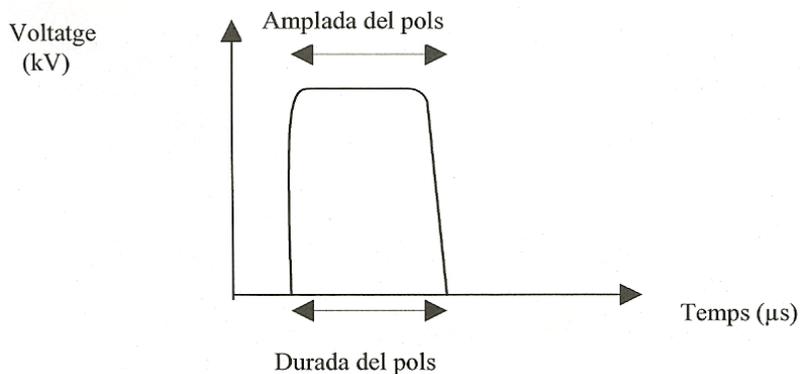


Fig.70- gráfico de onda cuadrada

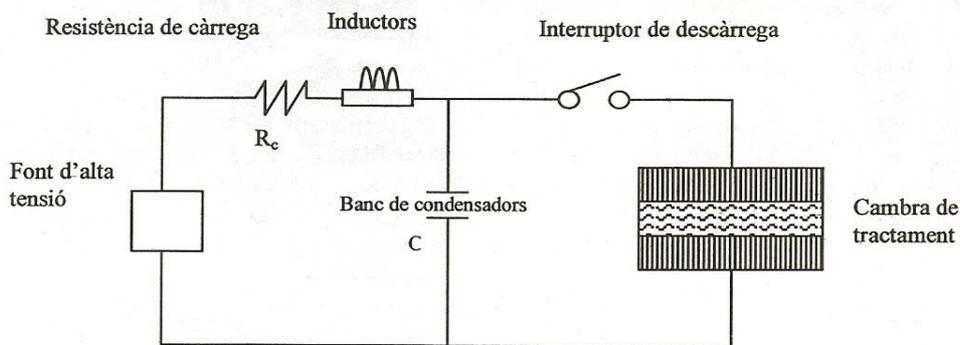


Fig.71- circuito simplificado para generación pulsos onda cuadrada

2.4.7. Efectos de los pulsos eléctricos sobre los microorganismos

Como ya se ha comentado anteriormente, el principio físico para la destrucción de microorganismos es la destrucción o deformación de la pared celular de los microorganismos, lo que da lugar a una permeabilización de la membrana por la formación de poros, reversibles o irreversibles.

Al aplicar un campo eléctrico externo sobre una célula se produce una acumulación de carga superficial y, por tanto, un aumento en la diferencia de potencial a través de la membrana. Las cargas a banda y banda de la membrana comienzan a atraerse al ser opuestas y producen una compresión en la membrana

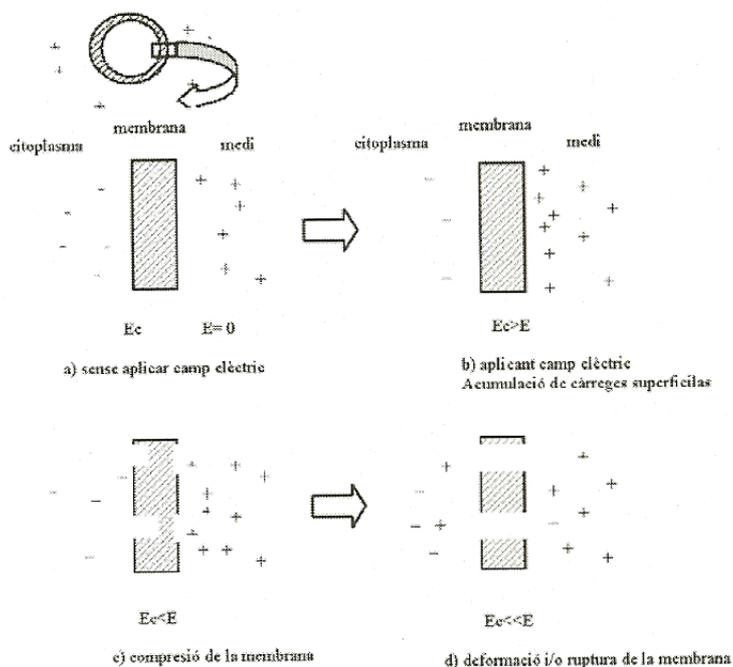


Fig.72- deformación de membrana celular por efecto de pulsos eléctricos

Cuando el potencial transmembrana alcanza un valor crítico, aparecen poros y comienza la permeabilización, inactivando al microorganismo. Si el potencial es igual o mayor al crítico, los poros son irreversibles. El potencial crítico depende del microorganismo o enzima, del medio donde se encuentren y del tamaño y forma de la célula. Para células esféricas de radio α , el potencial ΔV es:

$$\Delta V = 1,5 \cdot f \cdot a \cdot E_0 \cdot \cos\theta [1 - \exp(-t/\tau)]$$

Siendo:

F: constante = $1 / [1 + a \cdot G_m (r_{\text{interior}} + r_{\text{exterior}})]$

A: radio célula

E_0 : campo eléctrico

Θ : ángulo entre el radio vector y la dirección del campo eléctrico

T: tiempo de duración del campo eléctrico

T: tiempo de relajación = $f \cdot a \cdot C_m (r_{\text{int}} + r_{\text{ext}}/2)$

$R_{\text{int}} + R_{\text{ext}}$: resistencias exterior e interior

C_m : capacitancia de la membrana por unidad de área

G_m : conductancia de la membrana por unidad de área

2.4.8. Factores críticos que afectan a la inactivación microbiana

2.4.8.1. Intensidad de campo

Es uno de los factores principales. Se define como la diferencia entre el potencial entre dos puntos entre su distancia: $E = V / d$

En 2001, Benedicho et al (1981 Hülshager et al) describieron un modelo matemático que relaciona la velocidad de reducción de la población bacteriana con el campo eléctrico y el tiempo de tratamiento.

$$S = \left[\frac{t}{tc} \right]^{\frac{E-Ec}{k}}$$

S: fracción microorganismos supervivientes

T: tiempo de tratamiento

Tc: tiempo crítico

E: intensidad del campo eléctrico

Ec: intensidad crítica

K: constante propia de cada microorganismo

Esta ecuación también está condicionada por la temperatura de la suspensión y por la concentración de células bacterianas. Así, la inactivación aumenta al aumentar la intensidad de campo y la temperatura.

En 1995 Peleg definió otro modelo

$$S = \frac{1}{(1+e)^{\frac{E-E_c}{K_c}}}$$

Donde, $K_c(t) = K_{c0}e^{k_1 \cdot t}$, $E_c(t) = E_{c0}e^{-k_2 \cdot t}$, siendo K_c , K_{c0} , K_1 y K_2 constantes

La inactivación crece bastante cuando la fuerza de campo aplicada, E, excede un valor crítico E_c .

Microorganismos	Intensidad E (kV/cm)	Tiempo tratamiento t (μs)	Campo crítico E_c (kV/cm)	Tiempo crítico t_c (μs)	Constante K (kV/cm)	Coef. Correlación recta r (%)
<i>Escherichia coli</i> (4h. Incub)	4-20	0,07-1,1	0,7	11	8,1	97,7
<i>Escherichia coli</i> (30 h. Inc)	10-20	0,07-1,1	8,3	18	6,3	97,6
<i>Klebsiella pneumonia</i>	8-20	0,07-1,1	7,2	29	6,6	95,7
<i>Pseudomonas auriginosa</i>	8-20	0,07-1,1	6,0	35	6,3	98,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	14-20	0,07-1,1	13,0	58	2,6	97,7
<i>Listeria monocytogenes I</i>	12-20	0,07-1,1	10,0	63	6,5	97,2
<i>Listeria monocytogenes II</i>	10-20	0,07-1,1	8,7	36	6,4	98,5
<i>Candida albicans</i>	10-20	0,14-1,1	8,4	110	2,2	96,6

Tabla.18- Constantes cinéticas del modelo Hülshelger en solución tampón

2.4.8.2. Tiempo de tratamiento

Este tiempo es el que el alimento está sometido al campo eléctrico y es el producto del número de pulsos por su amplitud.

Sensoy, 1996, y Arántegui, 1999, encontraron modelos cinéticos de primer y segundo orden para relacionar el grado de supervivencia de los microorganismos con la intensidad de campo y el tiempo de tratamiento siguiendo el modelo de la ecuación de Hülsheger y la de Benedicho.

$$S = e^{-\frac{t-t_c}{Kc}}$$

2.4.8.3. Forma del pulso

Qin, 1994, estudió los efectos de diferentes pulsos y observó que los oscilatorios eran menos eficaces que los exponenciales o cuadrados, y que la eficiencia energética y la letalidad de los de onda cuadrada eran mayores que la caída exponencial. Esto se debe al hecho que los pulsos de onda cuadrada mantiene durante más tiempo la intensidad máxima aplicada. Para pulsos de onda cuadrada se calcula una eficiencia energética del 91% y para los exponenciales del 64%.

Respecto a la polaridad de los pulsos, se observó que los bipolares eran más letales que los unipolares, ya que su aplicación causa una inversión de la carga eléctrica después de cada pulso, que cambia la dirección de movimiento

de los iones cargados en la membrana, cosa que provoca un estrés celular y una rotura de la membrana. Los pulsos bipolares tienen además la ventaja de reducir la electrólisis de los alimentos y necesitan menos energía.

2.4.8.4. Temperatura de tratamiento

Jayaram, 1992, y Pothakamury, 1996, observaron efectos sinérgicos entre la temperatura de tratamiento y los pulsos eléctricos. Wouters, 1999, observó que cuando la temperatura inicial del alimento era elevada se necesitaba menos energía en forma de pulsos para llegar a unos niveles de inactivación determinados.

Sensoy, 1997, desarrollaron un modelo matemático basado en la ecuación de Arrhenius para predecir el efecto de la temperatura del medio en el nivel de inactivación microbiana:

$$K = K_{E0} e^{\left(\frac{-E_a}{RT}\right)}$$

Donde K: constante del nivel de microorganismos supervivientes (μs^{-1})

K_{E0} : factor constante (μs^{-1})

E_a : energía de activación ($\text{J}/\text{kg}\cdot\text{mol}\cdot\text{K}$)

R: constante universal de los gases ($1,9872 \text{ J}/\text{kg}\cdot\text{mol}\cdot\text{K}$)

T: temperatura del medio (K)

La inactivación aumenta al incrementar la temperatura del medio. La aplicación de los pulsos provoca un pequeño aumento de temperatura en los alimentos, por esto se hace necesaria una buena refrigeración durante el proceso, para mantener la temperatura por debajo de la pasteurización térmica. Un aumento de 5-10° C se considera bastante aceptable, manteniendo la temperatura por debajo de 30-40° C.

Un aumento elevado de la temperatura también provoca cambios en la permeabilidad de la membrana, haciendo que ésta sea más susceptible a la lisis mecánica. Este cambio se debe a que se produce un cambio de fase de los fosfolípidos de la bicapa lipídica que pasan de gel a líquido, reduciendo el grosor de ésta, reduciendo así su resistencia.

2.4.8.5. Factores del producto

La conductividad, la fuerza iónica y el pH son también factores propios del producto importantes.

Los alimentos con conductividades eléctricas elevadas generan picos pequeños en los campos eléctricos y, por tanto, no son aconsejables para tratar con pulsos eléctricos

Al aumentar la conductividad del fluido se reduce la resistencia de la cámara de tratamiento y, por tanto, la amplitud del pulso y el porcentaje de inactivación.

Vega (1996) observó que el tratamiento por pulsos eléctricos y la fuerza iónica eran los responsables de la electroporación y la compresión de la membrana, mientras que el pH del medio afectaba al citoplasma cuando se completaba la electro vaporación. La inactivación aumentaba al descender la fuerza iónica y con pH bajos.

Según Martin (1994) al añadir cationes divalentes como el magnesio o calcio la inactivación es menor, mientras que con los monovalentes no se apreciaba un cambio importante.

En cambio, Jeantet (1999) llegó a mejores resultados con la *Salmonella enteritidis* a pH altos (9), al darse un mayor estrés celular.

También el tipo de producto puede hacer variar el efecto del tratamiento

2.4.8.6. Factores microbianos

Se ha podido observar que las bacterias gram positivas son más resistentes que las negativas, y que las levaduras son las que peor resisten los pulsos de alta intensidad, mientras que si son sometidas a intensidades bajas pueden ser más resistentes que las gram negativas. Las esporas son mucho más resistentes que sus formas vegetativas.

Parece ser que al aumentar la concentración de microorganismos el efecto bactericida de los pulsos es menor, hecho no demostrado ampliamente.

Para Barbosa-Canovas (1999) no influyó el número de microorganismos de *E. coli* en leche después de aplicar un tratamiento de 70 kV/cm, con pulsos de 2 μ s.

En general, la fase logarítmica de las células es más sensible a los campos eléctricos que la fase estacionaria, ya que hay muchas más células en crecimiento y se está produciendo la división celular, de manera que la membrana es más susceptible al efecto de los pulsos eléctricos.

2.4.9. Efecto sobre los enzimas

El efecto sobre los enzimas no está totalmente determinado. Se ha observado que los resultados son diferentes según la intensidad de campo aplicado, el número de pulsos, la temperatura de tratamiento y el medio. Estudios de Giner (2000) sobre zumos de tomate consiguieron reducciones de pectimetilesterasa de hasta el 93,8% de la actividad inicial, y para la polifenoloxidasa de zumos de melocotón, de manzana y pera se llegó a reducciones de 62-97%, aplicando un rango de intensidades de 3 a 24 kV/cm.

Efecto sobre otros componentes minoritarios

En muchos de los estudios realizados se ha observado que los aromas y el sabor de los alimentos no se deterioran significativamente cuando se someten a éste tratamiento. Las vitaminas y los aromas se pierden en más cantidad al aplicar un tratamiento térmico. La vitamina C en zumos, por ejemplo, se destruye menos en éste tratamiento que en zumo pasteurizado.

Fuente	Microorganismo	Medio	Inactiv (D)	Cámara	Condiciones
Fernández-Molina (1999)	Listeria innocua	Leche desnatada (0,2% grasa)	2,6	Coaxial continua, 29 mL, d = 0,63 cm	15-28° C, 0,5 l/min, 100 pulsos exponenciales 50kV/cm, 0,5 μF, 2μs, 3,5 Hz
Fernández-Molina (1999)	Pseudomonas fluorescens	Leche desnatada (0,2% grasa)	2,7	Coaxial continua 29 mL, d = 0,63 cm	15-28° C, 0,5 l/min, 30 pulsos exponenciales 50kV/cm, 0,5 μF, 2μs, 4 Hz
Reina (1998)	Listeria monocytogenes	2% leche entera pasteurizada (3,5% grasa) y 2% leche desnatada (0,2% grasa)	3,0-4,0	Continua, 20 mL	10-50° C, 0,07 l/min, 30 pulsos bipolares 50kV/cm, t = 600 μs, 2μs, 1,7 Hz
Calderon-Miranda (1998)	Listeria innocua	Leche desnatada	2,4	Continua 29 mL, d = 0,6 cm	22-34° C, 0,5 l/min, 32 pulsos exponenciales 50kV/cm, 2μs, 3,5 Hz
Hülshager (1983)	Klebsiella pneumoniae ATCC27736	Tampón fosfato	3,0	Estática (placas paralelas) 4 mL, d = 0,5 cm	30 pulsos exponenciales de 2 V/μm, 36 μs, t = 100 μs
Sensory (1997)	Salmonella Dublín	Leche desnatada	3,0	Continua	10-50° C, 15-40 kV/cm, 12-127 μs
Lubicki y Jayaram (1997)	Yersinia enterocolítica	Solución de NaCl, pH = 7	6,0-7,0	Estática (placas paralelas)	2-3° C, 150-200 pulsos 75 kV, 500-1.300 ns

Fuente	Microorganismo	Medio	Inactiv (D)	Cámara	Condiciones
Hülshager (1983)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Tampón fosfato	3,5	Estática (placas paralelas) 4 mL, d = 0,5 cm	30 pulsos exponenciales de 2 V/μm, 36 μs, t = 1080 μs
Hülshager (1983)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	Tampón fosfato	3,0	Estática (placas paralelas) 4 mL, d = 0,5 cm	30 pulsos exponenciales de 2 V/μm, 36 μs, t = 1080 μs
Hülshager (1983)	<i>Listeria monocytogenes</i>	Tampón fosfato	2,0	Estática (placas paralelas) 4 mL, d = 0,5	30 pulsos exponenciales de 2 V/μm, 36 μs, t = 1080 μs
Hülshager (1983)	<i>Candida albicans</i>	Tampón fosfato	4,5	Estática (placas paralelas) 4 mL, d = 0,5 cm	30 pulsos exponenciales de 2 V/μm, 36 μs, t = 1080 μs
Dunn y Pearlman	<i>Salmonella</i> Dublin	Leche	4,0	Estática (placas paralelas)	63° C, 40 pulsos de 3,67 V/μm, 36 μs
Dunn y Pearlman	<i>Lactobacillus brevis</i>	Yoghurt	2,0	Estática (placas paralelas)	50° C, 1,8 V/μm
Gupta y Murray (1989)	<i>Salmonella typhimurium</i>	Solución NaCl	5,0	Estática, d = 6,35 mm	20 pulsos exponenciales de 83 kV/cm, 1 μs
Gupta y Murray (1989)	<i>Pseudomonas fragi</i>	Leche	4,5	Estática d = 6,35 mm	90 V/μm, 1μs, 10 pulsos de 6,8 V/μm + 1 de 7,5 V/μm + 1 de 8,3 V/μm + 5 de 9V/μm

Fuente	Microorganismo	Medio	Inactiv (D)	Cámara	Condiciones
Jayaram (1992)	Lactobacillus brevis	NaH ₂ PO ₄ / Na ₂ HPO ₄ ·H ₂ O	9,0	Estática (placas paralelas) 0,5 ml, d = 0,2 cm	60° C, 200 pulsos de 2,5 V/μm, 46 μs, t = 10000 μs
Pothakamury (1995)	Lactobacillus delbrueckii ATCC11842	SMUF (leche ultrafiltrada)	4,0-5,0	Estática (placas paralelas) 1 mL, d = 0,1 cm	<30° C, 40 pulsos exponenciales 1,6 V/μm, 200-300 μs, t = 10000μs
Pothakamury (1995)	Bacillus subtilis spores ATCC9372	SMUF	4,0-5,0	Estática (placas paralelas) 1 mL, d = 0,1 cm	<30° C, 50 pulsos exponenciales 1,6 V/μm, 200-300 μs, t = 12500μs
Pothakamury (1995)	Staphylococcus aureus	SMUF	3,0-4,0	Estática (placas paralelas) 1 mL, d = 0,1 cm	<30° C, 60 pulsos exponenciales 1,6 V/μm, 200-300 μs
Vega-Mercado (1996)	Bacillus subtilis spores ATCC9372	Crema de guisantes	5,3	Coaxial continua, 0,5 l/min	<5,5° C, 30 pulsos exponenciales 3,3 V/μm, 2 μs, 0,5 μF, 4,3 Hz
Ho (1995)	Pseudomonas fluorescens	Agua destilada, 10-35% sacarosa, 0,5% goma xantana y 0,5% de NaCl	>6,0	Estática, 49,5, 99,1, 148,6 mL, d = 0,3 cm	20° C, 10-20 pulsos bipolares de 2,5 V/μm, 2 μs, t = 2s
Qin (1994)	Bacillus subtilis	SMUF	4,5	Estática (placas paralelas), 100μL, d = 0,1 cm	13 pulsos monopolares de 1,6 V/μm, 180μs

Fuente	Microorganismo	Medio	Inactiv (D)	Cámara	Condiciones
Qin (1994)	Bacillus subtilis	SMUF	5,5,	Estática (placas paralelas), 100µL, d = 0,1 cm	13 pulsos monopolares de 1,6 V/µm, 180µs
Keith (1997)	Aerobis totals	Cebolla	0,3	Estática, 10 ml, d = 5mm, 200 mL d = 9mm	Pulsos bipolares de 10-25 kV/cm, 1-10 µs, t = 200-300 ms
Castro (1994)	Fosfatasa alcalina	Leche cruda, desnatada y SMUF	65%	Estática "Cuvette" d = 0,1 cm	22-49° C, 70 pulsos de 18 a 22 kV/cm, 0,7-0,8 µs
Vega-Mercado (1996)	Plasmina	SMUF	90%	Continua, placas paralelas	15° C, 50 pulsos de 30-40 kV/cm, 0,1 Hz, 2 µs
Ho (1997)	Lipasa, glucoxidasa, α-amilasa, peroxidasa fenoloxidasa	Soluciones tampón	70-85% 30-40%	Estática, cámara circular, 148 mL	30 pulsos de 13-87 kV/cm, 2 µs, 0,12 µF, t = 2 s

Tabla.19- Inactivación microorganismos y enzimas mediante PEAC

2.4.10. Limitaciones de esta tecnología

- Poca disponibilidad actual de unidades comerciales
- Presencia de burbujas de aire en la cámara, que provoca problemas operativos y de seguridad. Es necesario hacer el vacío.
- Aplicación todavía limitada. Los productos con gran conductividad no son muy adecuados al presentar una resistencia demasiado grande y necesitan mucha energía para conseguir un campo eléctrico específico
- El tamaño de las partículas, para líquidos, debe ser menor que el espacio de la zona de tratamiento en la cámara.
- La falta de recursos para medir con precisión la distribución del tratamiento, lo que provoca que los resultados obtenidos no sean totalmente fiables.

2.5. IRRADIACIÓN DE ALIMENTOS

2.5.Irradiación de alimentos

2.5.1. Introducción

El tratamiento ionizante de los alimentos es un proceso que tiene como finalidad sanear y/o alargar el tiempo de conservación de los alimentos. En general no está destinado a sustituir los tratamientos actuales sino a ser un complemento de éstos, como los tratamientos térmicos, por frío o químicos.

Uno de los productos cuantitativamente más importantes es el de las especias y hierbas aromáticas en que el tratamiento ionizante puede sustituir la fumigación con óxido de etileno.

En 1980, un comité mixto de expertos sobre la comestibilidad de los alimentos irradiados, convocado por la FAO y el Organismo Internacional de la Energía Atómica, llegó a la conclusión que “la irradiación de cualquier tipo de alimento no presenta riesgos toxicológicos y no plantea problemas microbiológicos o nutricionales especiales”.

Se trata, pero, de un tratamiento no térmico particularmente interesante en productos sólidos. En la industria de bebidas aún no está muy desarrollado, debido a que su altísima composición en agua hace que se formen mayor número de radicales libres derivados de ésta.

Llamamos radiaciones ionizantes a un conjunto muy diverso de emisiones que incluyen partículas subatómicas y radiación electromagnética de origen

nuclear o atómico y que se caracterizan porque al interactuar con la materia producen principalmente la pérdida de electrones de los átomos neutros, que se convierten en iones. Estas ionizaciones producen cambios fisicoquímicos en la materia en general y en el material biológico en particular. Las alteraciones fisicoquímicas pueden perturbar el funcionamiento de las estructuras más complejas de los seres vivos e incluso, provocar la muerte. Las radiaciones ionizantes, por tanto, pueden ser utilizadas para disminuir y/o eliminar microorganismos, insectos y también para retardar la germinación y los procesos de maduración de los alimentos. La ventaja principal de este método es la gran capacidad de penetración en la materia. Por otro lado, a pesar que producen algunos productos tóxicos en su interacción con la materia, éstos son de una cantidad prácticamente indetectable y, en cualquier caso, mucho menor a la producida en tratamientos químicos tradicionales.



Fig. 73- Símbolo de alimento irradiado

2.5.1.1. Campos de aplicación

Son múltiples: inhibición de la germinación, desinfección, pasteurización-esterilización y también se puede aplicar a la modificación de las propiedades de los materiales de envase.

El tratamiento por irradiación es capaz de inhibir de manera total y definitiva la brotación de los tubérculos y bulbos, lo que permite alargar el período de almacenaje. La desinfección de huevos, pescado, carnes frescas permiten eliminar todo tipo conocido de *Salmonella* y otras bacterias patógenas, sin afectar la naturaleza propia del alimento como el tratamiento térmico. La desinfestación se refiere a la eliminación de insectos, eliminando el uso de insecticidas y fumigantes, ya que no sólo produce la muerte o incapacidad de reproducción de los adultos, sino que también afecta a las larvas y huevos. La pasteurización y esterilización se relacionan con la eliminación parcial o total de bacterias, hongos y levaduras que disminuyen la vida de los alimentos. Especialmente útil en el caso de los alimentos frescos, en los que no es posible usar la pasteurización térmica, el tratamiento por irradiación, o pasteurización o esterilización en frío, es especialmente recomendable. Los pescados y mariscos pasteurizados por este método pueden llegar a triplicar el periodo de frescor normal; la carne puede llegar a mantenerse 30 días en condiciones óptimas. Finalmente, hay que recordar que se puede aplicar la irradiación en los envases, especialmente polímeros; la irradiación de estos materiales tiene dos aplicaciones destacables. Por un lado, al ser irradiados conjuntamente con el alimento, se eliminan o inhiben los microorganismos

presentes en la superficie. Por otro lado, la irradiación también puede mejorar las propiedades de los polímeros, ya que se ha demostrado que mejora la resistencia a la tensión, a los impactos, a la abrasión, y se aumenta la resistencia a la temperatura, lo que retarda el inicio y la propagación del fuego.

2.5.2. Fundamentos físicos de las radiaciones ionizantes

2.5.2.1. Tipos de radiaciones

Las radiaciones se clasifican en ionizantes y térmicas, según su efecto sobre la materia. Las ionizantes son aquellas capaces de producir ionizaciones en la materia, mientras que las térmicas sólo producen un aumento de la vibración de los átomos y/o moléculas que forman la materia y comporta un aumento de la temperatura. Las radiaciones tienen dos posibles orígenes: atómico y nuclear. Las primeras involucran los electrones que forman el átomo y pueden ser de dos tipos: de electrones y radiación electromagnética asociada a fenómenos de excitación/desexcitación de la estructura atómica. Las radiaciones de origen nuclear son las que involucran las partículas que constituyen los núcleos, protones y neutrones. Pueden ser de muchos más tipos: haces de electrones, electrones (β^-), positrones (β^+), protones, partículas α (núcleos de He) y radiación electromagnética, resultado de procesos de excitación y desexcitación en la estructura nuclear.

Todas las radiaciones que involucran partículas cargadas (protones, electrones, positrones, partículas α) son ionizantes; de las radiaciones electromagnéticas, sólo aquellas que tienen longitudes de onda inferiores o iguales a las del visible (380-750 nm) son capaces de producir ionizaciones.

De las de origen atómico, las más importantes son las que se obtienen a partir de los tubos de rayos catódicos o aceleradores lineales. El principio de funcionamiento es parecido ya que aceleramos electrones; en el caso de los tubos de rayos catódicos, estos electrones acelerados impactan sobre un metal y producen la emisión de radiación electromagnética (rayos X), de energías de entre 100 eV y 10 keV (o, equivalentemente, longitudes de onda de 10 nm y 0,1 nm, respectivamente). En los aceleradores lineales actuales se obtienen rayos X de energías muy superiores, del orden de MeV. Por otro lado, en los aceleradores es posible obtener directamente un haz de electrones de alta energía. Finalmente, las lámparas de luz ultravioleta son también radiaciones electromagnéticas de origen atómico y se enmarcan dentro de las radiaciones ionizantes (entre 5 eV y 1 keV)

Las radiaciones de origen nuclear son mucho más diversas. Se producen de forma espontánea a partir de los denominados radionúcleos. Hay tres tipos base de emisiones:

- Radiación alfa (α). Las partículas alfa son un núcleo formado por dos protones y dos neutrones (núcleos de He). Se producen por escisión de un radionúcleo de número másico grande, $A > 150$. Las partículas alfa

tienen un espectro discreto de energías y se caracterizan porque en el agua se frenan unas décima de milímetro.

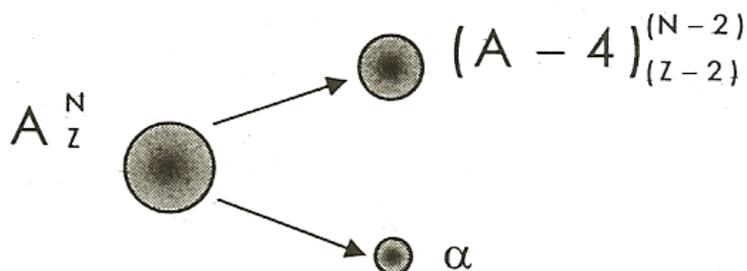


Fig.74- esquema desintegración nuclear que origina radiación α

- Radiación beta (β). La radiación beta es el resultado de la transformación de un neutrón en un protón, que produce la emisión de un electrón (β^-), y de la transformación de un protón del núcleo en un neutrón, que produce la emisión de un positrón (β^+). Tienen un espectro continuo de energía con un valor máximo y se caracterizan porque se frenan algunos centímetros en agua.

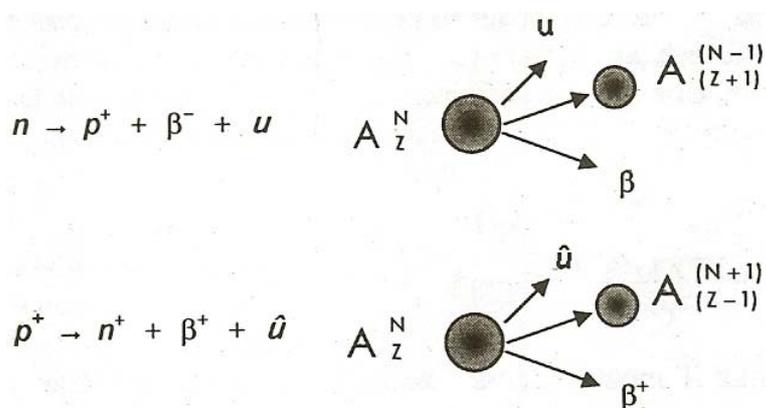


Fig.74- esquema desintegración nuclear que origina radiación β

- Radiación gamma (γ). Existen radionúcleos resultado de otras transiciones que se encuentran en estados de configuración excitados y que transitan espontáneamente a estados energéticamente más estables por emisión de radiación electromagnética, la llamada γ . Las energías características de esta radiación electromagnética son de 10 keV a 100 MeV, y para frenarlas hacen falta de 1 m a centenares de metros en agua, dependiendo de la energía, aunque se pueden frenar en unos centímetros de plomo.

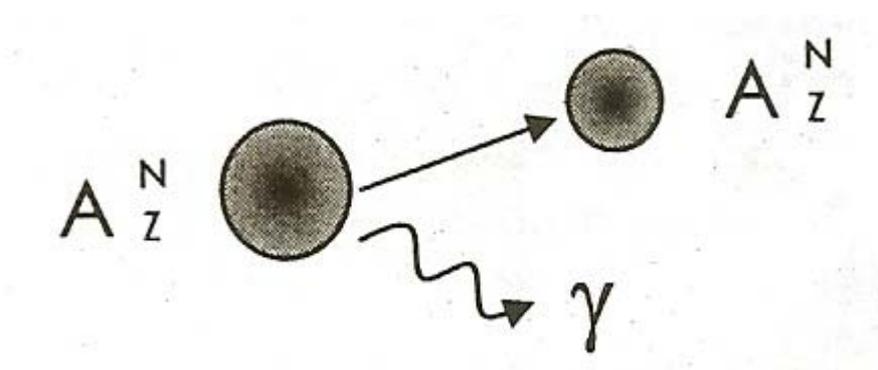


Fig.76- esquema desintegración nuclear que origina radiación γ

Una característica importante de las radiaciones ionizantes de origen nuclear es que las fuentes de radioactividad disminuyen su emisión a medida que los radionúcleos se transforman. Se dice que su actividad va disminuyendo a lo largo del tiempo. Se define la actividad de una fuente radiactiva como el número de núcleos que se desintegran por unidad de tiempo, y tiene una dependencia exponencial decreciente con el tiempo.

$$A(t) = A(0) \cdot e^{-\ln 2 t / T}$$

Donde $A(0)$ es la actividad inicial y T es el período de semidesintegración. Al actividad de una fuente se mide en becquerels (1 Bq = 1 desintegración) en el sistema internacional, aunque la unidad más utilizada es el curie (1 Cu = 3,71010 Bq). La consecuencia más importante es que una fuente radiactiva tiene una actividad que depende del tiempo y, además, una vida útil que depende del valor de T .

2.5.2.2. Dosimetría

En la irradiación es muy importante la evaluación de la denominada dosis absorbida. Cuando un material es irradiado, una parte de energía se convierte en ionizaciones y/o excitaciones de las moléculas del material, una segunda parte en radiación a partir de algunos fenómenos físicos complejos denominados radiación de frenada, efectos Compton y fotoeléctrico y producción de pares, y, finalmente, una última parte que simplemente atraviesa la materia sin producir efectos. Una parte de la energía que lleva la radiación se absorbe en la materia y esta es la que en definitiva produce daños. Una medida de la energía cedida a la materia es la dosis absorbida.

Denominamos dosis absorbida a la energía media absorbida por unidad de masa

$$D = \varepsilon / m$$

La unidad del SI es el gray (1 Gy = 1 J/kg), aunque también se usa otra más antigua, el rad (1 Gy = 100 rad).

Otra medida importante es la tasa de dosis, la dosis absorbida por unidad de tiempo, que se mide en Gy/s. Es tan importante o más que la dosis total absorbida.

$$D = dD / dt$$

Finalmente, es necesario remarcar que, a pesar que la energía cedida en la materia sea la misma, no todas las radiaciones ionizantes producen los mismos daños en la materia viva. Denominamos eficacia biológica relativa (EBR) al factor que permite unificar las dosis recibidas para diferentes radiaciones ionizantes. Se establece como referencia el efecto producido sobre los tejidos por los rayos X generados a 250 kV. Así, se define el factor de calidad de la radiación (Q) como el cociente entre el efecto de la radiación respecto al efecto que produciría la radiación X (250 kV). Los factores de calidad son Q = 1 para la radiación electromagnética, Q ≈ 1 para la radiación β y para electrones acelerados y Q = 20 para la radiación α.

La dosis equivalente (H) se define como:

$$H = \sum(D_i \cdot Q_i)$$

H se mide en siverts (1 Sv = 1 J/kg), o rem (1 Sv = 100 rem).

Es importante remarcar que en la naturaleza existen radionúcleos, tales como el U^{235} y el Th^{232} , que son emisores α , y generan toda una cadena de radionúcleos radiactivos, que son responsables de que absorbamos una dosis anual externa de algunos mSv. También recibimos una dosis externa debida a la radiación electromagnética de origen terrestre, o cósmica. Entendemos como dosis externa la que recibimos como consecuencia de radionúcleos externos a nosotros, mientras que la dosis interna se refiere a los que forman parte de nuestro organismo. Otros radionúcleos tales como el K^{40} , el Rb^{87} y el C^{14} son responsables de dosis anuales externas e internas del orden de algunos mSv. Todos los organismos están sometidos a una dosis anual de unos 2,4 mSv, de la que 0,8 mSv corresponden a la dosis interna y 1,6 mSv a la externa.

Estas dosis naturales, pero, son seis ordenes de magnitud inferiores a las que se utilizan en la irradiación de alimentos. Finalmente, hay que remarcar que, como normalmente la irradiación se realiza externamente por haces de electrones o bien por radiación electromagnética, las dosis médicas se dan en Gy, debido a que el factor de calidad es de 1. En el caso de la irradiación de materiales a escala industrial, como que no se refiere a material biológico, también se expresa en Gy.

Fuentes	Dosis efectiva anual externa (mSv)	Dosis efectiva anual interna (mSv)
Radiación ionizante	0,3	-
Componente neutrónico	0,055	-
Radionúcleos cosmogénicos	-	0,015
K-40	0,15	0,18
Rb-87	-	0,006
Series U-238	0,1	1,24
Series Th-232	0,16	0,18
Total	0,8	1,6
		<u>Total</u> de 2,4 mSv

Tabla.20- Dosis efectiva anual recibida por cualquier organismo en la tierra (Ortega, Jorba, 1994)

2.5.3. Efectos biológicos de las radiaciones ionizantes

Los efectos de la irradiación se producen a diversos niveles: en las células, en los tejidos o sobre todo el organismo. Los daños biológicos son muy diferentes en cada caso y por tanto las dosis aceptables son también diferentes. Una persona, por ejemplo no puede soportar dosis superiores a 5 Gy, pero un tratamiento oncológico en un tejido enfermo implica dosis de algunas decenas de Gy; por otro lado, para eliminar insectos se necesitan algunos centenares de Gy y para los microorganismos del orden de algunos kGy.

Existen tres fases de interacción: una física, la ionización o excitación (tiempos de entre 10^{-17} a 10^{-15}); fase química, en la que se forman los radicales libres

(tiempo característico de 10^{-12}) y una fase molecular o bioquímica, en la que los radicales se recombinan y se forman las moléculas tóxicas o anormales. Las moléculas formadas por irradiación directa, radicales, o indirecta, se denominan sustancias radioinducidas. Estas pueden ser extrañas y. En tal caso, pueden ser tóxicas o perjudiciales para la célula. Ésta reacciona ante la agresión externa mediante os mecanismos de reparación celular y se dan tres situaciones: a) si la producción de toxinas es demasiado alta se produce la muerte en interfase, b) si la célula sobrevive pero el daño genético es tal que impide la reproducción se produce el fallo reproductivo y c) si el daño genético no es demasiado, la célula puede reparar en parte el material genético, suficientemente para permitir su capacidad reproductora y vuelve a ser viable, pero necesita un tiempo para realizar esta reparación y se observa un retardo en la división y la transmisión de mutaciones a las generaciones posteriores.

Evidentemente, el daño depende de la dosis pero también de la tasa de la dosis. En cualquier caso, la respuesta celular es la misma que se desarrolla cuando hay cualquier agresión a la célula. Por tanto, los efectos son iguales que los resultantes en cualquier otro tipo de agresión. En el caso de los alimentos, los resultados son pequeños cambios organolépticos y algún cambio en los nutrientes similar a la cocción, enlatado o congelación.

Cuanto más complejo es el sistema, más importantes son los daños recibidos por la irradiación, así es necesario dosis más altas para los microorganismos que para los insectos.

Los alimentos son materia biológica y alguno de ellos, materia viva. La irradiación tiene cuatro efectos fundamentales sobre los alimentos:

- Destruye insectos y microorganismos o los hace inviables
- Produce moléculas tóxicas
- Produce daños en el material genético
- Disminuye el contenido de nutrientes

El primero es el efecto deseado, los otros en principio no. La producción de moléculas tóxicas, hay que recordar, que también aparece al aplicar tratamientos químicos o térmicos; por tanto lo importante es medir el tipo de sustancias y la cantidad para garantizar que no puede haber perjuicio para la salud. El tercer efecto tampoco es deseado, pero hay que remarcar que la viabilidad reproductiva de los alimentos no es importante, en todo caso hay que garantizar que estos daños no provoquen problemas al consumidor. Finalmente, es evidente que hay que establecer la estabilidad de macro y micronutrientes para garantizar la calidad del producto.

2.5.4. Radiaciones ionizantes en la industria alimentaria. Tipos de radiaciones y dosimetría

El Comité de expertos sobre la irradiación de alimentos (FAO/OIEA/OMS) ha establecido a escala mundial unas normas para procurar garantizar la seguridad de los alimentos sometidos a irradiación. Por eso ha establecido el tipo de radiaciones permitidas, las energías máximas que pueden utilizarse y las dosis recomendadas.

Las radiaciones ionizantes utilizadas en la industria son fundamentalmente las lámparas ultravioletas, los rayos X obtenidos en tubo de rayos catódicos, haces de electrones obtenidos en acelerador lineal y rayos γ . Básicamente, podemos distinguir entre radiación electromagnética y partículas cargadas (los electrones acelerados).

Las lámparas de luz ultravioleta se utilizan como iluminación ambiente en lugares que deben mantenerse estériles, siempre en periodos en los que no trabajen personas; se caracterizan porque penetran poco (algunos mm) pero son útiles para mantener el ambiente libre de microorganismos. Los rayos X tienen mucha más energía y su penetración es mucho mayor, (varios metros en agua para energías de MeV). Las diferencias entre radiaciones X y γ son por una parte su origen, atómico el primero nuclear el segundo, y por otro lado que la energía de los rayos X tiene un espectro continuo con un valor máximo, mientras que los γ tienen energías discretas bien definidas y que dependen del isótopo radiactivo usado. Con tal de garantizar que no hay ningún peligro el

Comité de expertos sobre irradiación de alimentos ha establecido que los rayos X deben tener energías menores o iguales a 5 MeV; así mismo, ha establecido que los rayos γ se deben obtener a partir de los radionúcleos ^{60}Co ó ^{137}Cs . El ^{60}Co se obtiene por activación neutrónica en un reactor nuclear a partir de cobalto en estado natural, cuando decae da lugar a radiaciones γ y β y se convierte en Ni^{60} , que no es radiactivo y además es soluble en agua.

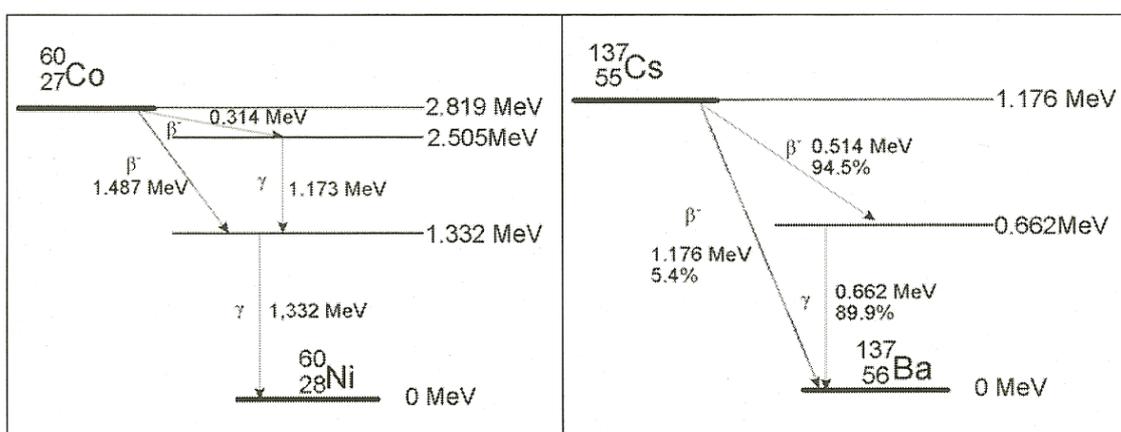


Fig.77- esquema desintegración radiactiva del ^{60}Co y ^{137}Cs

El ^{137}Cs emite rayos γ y β ; se obtiene como producto de fisión del U^{235} en las centrales nucleares; cuando decae da lugar a Ba^{137} , que no es radiactivo; en su tratamiento para eliminarlo se puede solubilizar en agua, por lo cual debe ir en cápsulas triplemente blindadas

La penetración en la materia (de densidad como el agua) de estas radiaciones es de 10 a 40 cm, según la energía de radiación.

Finalmente, los haces de electrones acelerados son haces de partículas cargadas eléctricamente, de alta energía, que de acuerdo con el Comité de

expertos sobre irradiación de alimento establece que tengan energías inferiores a 10 MeV. La desventaja principal frente a la radiación gamma es la penetración; los electrones tienen una penetración de 0,35/d cm/MeV (los electrones de 10 MeV en agua de densidad 1 penetran 3,5 cm).

Tipo instalación	Ventajas	Inconvenientes
Radiación (⁶⁰ Co ¹³⁷ Cs)	<ul style="list-style-type: none"> -Penetración elevada -Fiabilidad de la fuente que irradia -Facilidad de automatización 	<ul style="list-style-type: none"> -Instalación radiactiva de 1ª categoría según legislación española -Transporte y almacenaje de fuentes radiactivas -Pérdida anual de actividad de la fuente -Tasa de dosis determinada por fuente -Emisión permanente de radiación -Costes de seguridad -Costes de funcionamiento
Electrones acelerados ¹⁰ MeV	<ul style="list-style-type: none"> -Fuente eléctrica de producción que sólo funciona cuando se necesita -Posibilidad de control unitario -Tasa alta de dosis -Ausencia de impacto ambiental -Costes funcionamiento bajos 	<ul style="list-style-type: none"> -Instalación radiactiva de 1ª categoría según legislación española -Penetración limitada -Necesidad de mucho personal de manipulación, ó de equipos de manipulación automatizados
Radiación X ⁵ MeV	<ul style="list-style-type: none"> -Fuente eléctrica de producción que sólo funciona cuando se necesita -Posibilidad de control unitario -Tasa alta de dosis -Ausencia de impacto ambiental -Costes funcionamiento 	<ul style="list-style-type: none"> -Instalación radiactiva de 1ª categoría según legislación española

Tabla.21- Ventajas e inconvenientes de diferentes instalaciones de irradiación

En las radiaciones utilizadas en la alimentación la dosis absorbida (D) y la equivalente (H) coinciden, ya que el factor de calidad es 1. Así, la dosis se da como dosis absorbida y se mide en Gy.

Dosis	Dosis absorbida (kGy)	Aplicación
Baja < 1 kGy	0,04-0,10	Inhibición de germinación de tubérculos
	0,03-0,20	Esterilización insectos
	0,50-1,00	Control maduración frutas y hortalizas
Media 1-10 kGy	1-3	Muerte insectos
	1-7	Radurización (eliminación patógenos)
	2-10	Radurización (pasteurización)
Alta 10-50 kGy	15-50	Radapertización (esterilización)
	10-50	Descontaminación de aditivos y especias

Tabla.22- Dosis para irradiar alimentos (Raffi, 1995)

Las dosis van de 2 a 5 kGy para alargar el tiempo de almacenaje y si son del orden de 10 kGy aseguran la calidad y almacenaje para periodos largos sin refrigeración. Si un alimento ha recibido una dosis de 10 kGy no presenta riesgo toxicológico, para dosis más altas es preciso un análisis particular, aunque suele ser una dosis suficiente para esterilizar de microorganismos (algunos necesitan dosis de 50 kGy).

Aunque se trabajen con dosis de esterilización, de 10 a 50 kGy, las sustancias tóxicas formadas son de muy baja concentración, del orden de ppm o µg/kg.

Sustancia	Concentración (ppm)
Alcanos	12
Alquenos	14
Aldehidos	1,5
Compuestos de azufre	1,0
Alcoholes	1,0
Cetonas	< 0,5
Alquilbencenos	< 0,1
Ésteres	< 0,1

Tabla.23- Componentes volátiles radioinducidos en carne vacuna esterilizada por irradiación (Aleixandre, 1997)

En general, se acepta que para dosis inferiores a 1-2 kGy no hay pérdidas significativas nutricionales.

Cuando se irradia un alimento no hay ninguna característica física o química que indique la dosis recibida. Por eso se utilizan dosímetros para controlar el proceso. Se ha de tener en cuenta que la dosis que recibe el alimento no es la misma en todos los puntos y al establecer una dosis de irradiación algunas partes habrán absorbido más dosis y otras menos, así que es adecuado colocar dosímetros en diferentes puntos del producto.

2.5.5. Efectos de la irradiación sobre los componentes de los alimentos.

Efectos sobre las células

La irradiación afecta al material genético si se produce un impacto que modifique el ADN celular. La irradiación genera la aparición de cromosomas anormales. En las múltiples pruebas realizadas con animales alimentados con alimentos irradiados con dosis de 25 a 50 kGy no se han encontrado defectos genéticos transmisibles (teratogénicos y oncológicos) atribuibles a su consumo. También se han realizado algunas pruebas en humanos en la década de los 80 en China, sin encontrar ninguna anomalía. Hay que decir que no se han hecho estudios a largo plazo con humanos.

La irradiación es el medio principal donde se produce la irradiación. Al interactuar con la molécula de agua se puede producir la ionización, la disociación y la excitación, siendo productos radioinducidos muy reactivos, que reaccionaran entre si en procesos de recombinación o dimerización, formando peróxido de oxígeno. Una cantidad muy elevada de molécula tóxicas produce la muerte de la célula. Hay que indicar que también hay radicales parecidos en alimentos no irradiados por efecto de enzimas, oxidación de grasas y ácidos grasos y la degradación de vitaminas y pigmentos liposolubles.

2.5.6. Efectos de la irradiación sobre los componentes de los alimentos.

2.5.6.1. Efectos sobre los macronutrientes

Los estudios realizados demuestran que los macronutrientes (proteínas, carbohidratos y grasas) son relativamente estables a dosis de radiación de más de 10 kGy, e incluso con dosis de 50 kGy las pérdidas son relativamente pequeñas.

La irradiación provoca en los lípidos la formación de radicales catiónicos y moléculas excitadas. Los radicales que se forman reaccionan con otros que dan lugar a otras sustancias. Estos radicales se pueden romper, dimerizar o tener desproporción molecular, o bien fijar electrones libres del entorno. También se forman triglicéridos excitados, ácidos grasos, ésteres de propanodiol y propenodiol, aldehídos, cetonas, diglicéridos, diésteres, alcanos, alquenos, ésteres de metilo, hidrocarburos y triglicéridos de cadena corta. Estos productos se obtienen también y en mayor cantidad con tratamientos por calor. Finalmente, al ser irradiados los ácidos grasos experimentan oxidaciones. Como más insaturado es el ácido, más se oxida. Cuando la dosis es alta, unos 20 kGy, se forman aldehídos, cetonas, alcoholes, ésteres y otros compuestos volátiles, causantes de malos olores. Los ácidos grasos saturados también se pueden oxidar y formar HS, que también causa malos olores. Para evitarlos se recomienda irradiar en ausencia de oxígeno.

Cuando se irradian los carbohidratos reaccionan principalmente con los radicales hidroxilo formados a partir del agua para formar cetonas, aldehídos o ácidos. Dependiendo de la dosis, son hidrolizados y oxidados o bien forman compuestos más sencillos, y pueden experimentar una despolimerización que los hace más susceptibles al ataque de enzimas hidrolíticas. Se ha de tener en cuenta que en los alimentos los carbohidratos, a causa de su disposición (al ser principalmente de origen vegetal, la pared celular tiene efecto protector) son menos susceptibles a la irradiación, produciendo cambios insignificantes.

En el caso de las proteínas, se pueden dar diversos tipos de reacciones:

- La rotura de la cadena proteica, formando polipéptidos
- Desnaturalización por a) agregación o disgregación de polipéptidos ó b) cambios en las estructuras secundaria o terciaria (pero en menor medida que en tratamientos térmicos)
- Reacción de los aminoácidos que forman la cadena polipeptídica con los radicales libres producidos por el agua, lo que sucede sin que se rompan los enlaces peptídicos.

En general, pero, los aa constituyentes son muy resistentes a la irradiación, se necesitan dosis de 40-50 kGy para provocar cambios organolépticos.

Los enzimas son todavía más resistentes a la irradiación, prácticamente podríamos decir que no se ven afectados. Para inhibir su actividad se necesitan dosis del orden de 60 kGy. Por eso, los alimentos que deban estar

almacenados durante grandes periodos de tiempo deben someterse a algún tipo de tratamiento térmico para evitar la descomposición enzimática.

2.5.6.2. Efectos sobre los micronutrientes

Es conocido que en todos los métodos de conservación, las vitaminas suelen ser los componentes más afectados. La sensibilidad de estas al ser irradiadas varía según la dosis, la vitamina y el tipo de alimento, como también de las condiciones en que se ha irradiado el alimento. Las vitaminas A, E, C, K, B₁ son relativamente sensibles a la radiación, mientras que la riboflavina, niacina, piridoxina, el ácido pantoténico, la cobalamina y la vitamina D son más estables. Las pérdidas son menores en ausencia de oxígeno y si la temperatura durante la irradiación es baja. En condiciones óptimas, las pérdidas para dosis por debajo de 1 kGy son insignificantes.

En los minerales no se aprecian pérdidas en su contenido ni en los elementos traza para cualquier dosis absorbida por el alimento.

2.5.7. Efectos de la irradiación sobre los microorganismos y macroorganismos

La irradiación global tiene un efecto letal sobre los seres vivos. La destrucción celular se debe a lesiones de membranas, moléculas de enzimas o ácidos nucleicos, o bien a la producción excesiva de sustancias tóxicas radioinducidas. La sensibilidad es mayor contra más complejo sea el organismo. La esterilización de los insectos se consigue con dosis de 0,03-0,2 kGy, su muerte con dosis de 1-3 kGy.

La reducción de una determinada contaminación microbiana depende de la dosis, de forma que a medida que la dosis aumenta la población microbiana se reduce logarítmicamente:

$$N/N_0 = e^{-k \cdot D}$$

Donde N_0 es el número inicial de microorganismos, N es el número de supervivientes, D la dosis recibida y k una constante que depende de cada microorganismo. Dosis de 1-10 kGy garantizan la pasteurización, dosis de 15-50 kGy son necesarias para la esterilización completa. Es muy habitual trabajar con la D_{10} , la dosis necesaria para reducir a 1/10 el número de microorganismos viables, de forma que $d_{10} = \ln 10/k$.

Especie	D10 (kGy)
<i>Campylobacter</i>	0,08-0,16
<i>Escherichia</i>	0,30-0,55
<i>Listeria</i>	0,20-1,10
<i>Salmonella</i>	0,31-1,30
<i>Staphylococcus</i>	0,34
<i>Streptococcus</i>	0,69-1,20
<i>Yersinia</i>	0,04-0,21

Tabla.24- D10 de algunas bacterias

Los más resistentes los esporulados y las especies capaces de reparar con rapidez los daños sufridos en el ADN. La esterilización de estos y también de hongos o virus requiere dosis mucho mayores, tanto que podrían dañar al producto. Los virus son muy resistentes y no les afectan las radiaciones normales

2.5.8. Efectos de la irradiación en los alimentos. Efecto sobre vinos, licores y cerveza

Los procesos radioinducidos que la radiación provoca se pueden favorecer mediante la incorporación de oxígeno en el ambiente, el incremento de la temperatura, el aumento de pH y el contenido en agua del producto.

Según cada producto se recomienda irradiar a temperaturas de congelación, productos envasados al vacío o en atmósfera modificada y, en general, combinar la irradiación con otros métodos barrera para la proliferación microbiana.

En los productos secos o deshidratados, la irradiación es más efectiva al formarse menos radicales libres que derivan principalmente del agua.

Las técnicas actuales que evitan el desarrollo de bacterias en los vinos implican el uso de agentes químicos como el anhídrido sulfuroso, ácido caprílico, ácido caproico, ácido ascórbico..., antibióticos como la nisina y pimaracina, enzimas lácticas como lisozimas y cimolasas y agentes físicos como microondas y ultrasonidos.

Se está investigando la aplicación de radiaciones ionizantes con diferentes objetivos:

- Utilizarla como solución alternativa sola o en combinación a la adición de SO₂, en la prevención del desarrollo de bacterias y virus en vinos embotellados
- Evitar la formación de 2,4,6-tricloroanisol (TCA) a partir del 2,4,6-triclorofenol (TCF), responsables del sabor desagradable del vino picado. La irradiación de corcho es efectiva para evitar la formación de estos productos
- Alargar la vida del producto
- Mejorar aspectos organolépticos como el color, olor y sabor

Producto	Tipo irradiación/dosis	Objetivo	Efecto
Vino	Gamma <0,8 kGy	Prevención desarrollo bacterias y virus en vinos embotellados	Posibles variaciones organolépticas
Rakia y Madeira	Gamma	Aceleración proceso envejecimiento	Mejora calidades organolépticas
Sake	Gamma	Aumento vida media combinado con calor (70° C, 10 min) y radiación (2,4 kGy)	No cambios organolépticos detectados
Vino Romania	Gamma 0,6 kGy	Eliminación de microorganismos Variaciones de propiedades organolépticas	Decoloración Descenso contenido SO ₂ y permanganato Descenso taninos y pigmentos
Uva y pulpa de uva	Gamma	Esterilización	Desarrollo favorable de propiedades organolépticas Irradiación da lugar a vinos baja calidad

Producto	Tipo irradiación/dosis	Objetivo	Efecto
Cerveza embotellada	Gamma	Reducción carga microbiana	Aparición color oscuro y sabor desagradable
Brandy de patata dulce	Gamma	Mejora propiedades organolépticas Reducir elementos patógenos	Desaparición sabor amargo y mejora calidad del sabor
Corcho	Gamma y electrones	Detención de conversión microbiológica de TCF a TCA Reducción carga microbiana	Prevención formación sabores desagradables

Tabla.26- Irradiación de bebidas alcohólicas (Calderón Garcia)

2.5.9. Irradiación de tapones de corcho para vinos

En la elaboración y el uso de tapones de corcho natural debe ejercerse un estricto control de ciertos puntos críticos, cuya falta de control ha sido la causa del descrédito que este tipo de tapones ha sufrido al asociarlos de forma indisoluble al defecto de "gusto a corcho". Estos puntos de control críticos son el desarrollo en el corcho de microorganismos con capacidad de producción de cloroanisoles; la contaminación por cloroanisoles (o por sus precursores, los clorofenoles) de los tapones de corcho natural, durante su fabricación, su transporte o su almacenamiento y uso en la bodega; y la contaminación del vino antes de su embotellado, por uso de tubería y depósitos no higienizados o de barricas mal destartarizadas.

A nivel científico, en los últimos años se ha prestado mucha atención al impacto sensorial del tapón de corcho en el vino y se han realizado grandes avances en el conocimiento de las causas que provocan el defecto de "gusto a corcho" en los vinos y de su relación con el uso de tapones de corcho.

Los microorganismos colonizadores del corcho tapizan el interior de las lenticelas. Esta carga microbiana inicial disminuye como consecuencia de los tratamientos a los que se somete el corcho durante toda la fase de fabricación de tapones de corcho: estabilización de la corteza al aire libre durante un año; hervido de la corteza en condiciones controladas; reposo de las planchas hervidas en condiciones especiales de almacén; lavado

con peróxidos para la desinfección de los tapones; estabilización de los tapones en almacén en una atmósfera con una humedad relativa entre el 45-70% y una temperatura entre 15-25°C (con el fin de que estos alcancen un valor de actividad de agua por debajo de 0,75, suficiente para impedir el desarrollo de microorganismo); envasado al vacío con inyección de anhídrido sulfuroso.

A pesar de su baja carga microbiana no podemos hablar de esterilidad de los tapones de corcho. En la industria de productos médicos se acepta generalmente que el proceso de esterilización aporta un nivel de seguridad en la esterilidad (NSE) de menos de una unidad no estéril por millón de unidades procesadas. Se debe tener en cuenta varios criterios para elegir el proceso de esterilización más adecuado: mantenimiento de niveles microbiológicos aceptables durante todo el proceso de fabricación, y ausencia de metabolitos microbianos; garantía de esterilidad del producto terminado sin pérdida de propiedades físicoquímicas; método seguro, inocuo y de gran poder de penetración. Si se consideran estos requisitos, no resulta válida para el tapón de corcho la esterilización por calor seco ni por autoclave, porque alteran las propiedades físico-mecánicas del corcho. La esterilización mediante óxido de etileno, muy utilizada en el campo hospitalario, se descarta tanto por su toxicidad como por su elevada reactividad; además su poder mutagénico y carcinogénico impide su uso en alimentos. La radiación ultravioleta, aunque sea letal para los microorganismos, tiene un escaso poder de penetración en la materia.

Una alternativa óptima es la esterilización de los tapones de corcho mediante electrones acelerados.

La dosis absorbida inducida por los aceleradores de electrones depende de la energía del haz de electrones, de la intensidad promedio de la corriente, de la anchura de barrido y de la velocidad del transportador. Además de cumplir con los requisitos anteriores, se posee experiencia en el empleo de este tratamiento con una amplia gama de materiales, se realiza a temperatura ambiente, y en la actualidad, este tipo de esterilización se está aplicando sistemáticamente en países como Inglaterra, Suiza y Francia (los cuales poseen estrictas normas sanitarias) para el tratamiento de productos alimentarios sin ningún tipo de riesgo tanto para la salud como para la modificación de las características organolépticas de los mismos.

La eficacia de la esterilización de los tapones de corcho depende no sólo de la dosis energética a la que se trata el producto, sino que ésta a su vez depende de otra multiplicidad de factores tales como especies microbianas presentes y nivel inicial de contaminación o carga biológica, ambiente de irradiación, grado de hidratación, densidad, distribución del producto en las cajas, etc. Para proceder a su esterilización, el producto final ya envasado deber ser previamente validado para el proceso de esterilización. Los estudios realizados con tapones de corcho han mostrado que con intensidades de radiación mayores de 25 KGy se esterilizan completamente los tapones, no necesitando validación microbiológica de la esterilización, pero por debajo de 10 KGy, no es efectiva la inactivación de

microorganismos. Teniendo en cuenta que el corcho es un material de muy baja densidad y bajo porcentaje de humedad, se apunta a una dosificación de 15 KGy como suficiente para conseguir la esterilidad. También se ha indicado que por encima de 100 KGy se observan cambios en la composición, fundamentalmente en compuestos fenólicos y en compuestos volátiles. Las propiedades físicas (dimensiones, densidad, recuperación diametral, fuerza de extracción, etc.) de los tapones de corcho natural, colmatados o no, no se ven afectadas por el tratamiento de manera significativa a la dosis aplicada (15 KGy). También se ha observado una disminución poco significativa de los valores de capilaridad, atribuidos a los fenómenos de reticulación como consecuencia de la formación de nuevos enlaces en los polímeros superficiales del tapón debido al impacto de los electrones contra las macromoléculas del corcho.

La ventaja esencial de la esterilización es evitar la proliferación de microorganismos durante el almacenamiento de los tapones en la bodega antes de su empleo. En este tipo de esterilización se ha apuntado también que algunos contaminantes del corcho como el TCA y PCA (pentacloroanisol) disminuyen su concentración significativamente después de este tratamiento

(el TCA se degrada, dando lugar a compuestos que tienen mínimos efectos sobre la calidad sensorial del vino).

La aplicación novedosa de la esterilización de tapones de corcho por radiación ionizante de electrones acelerados parece configurarse como una

técnica sencilla y muy eficaz que no afecta a las propiedades mecánicas ni altera su composición, siempre que en las etapas de elaboración previas se haya ejercido un control microbiológico.

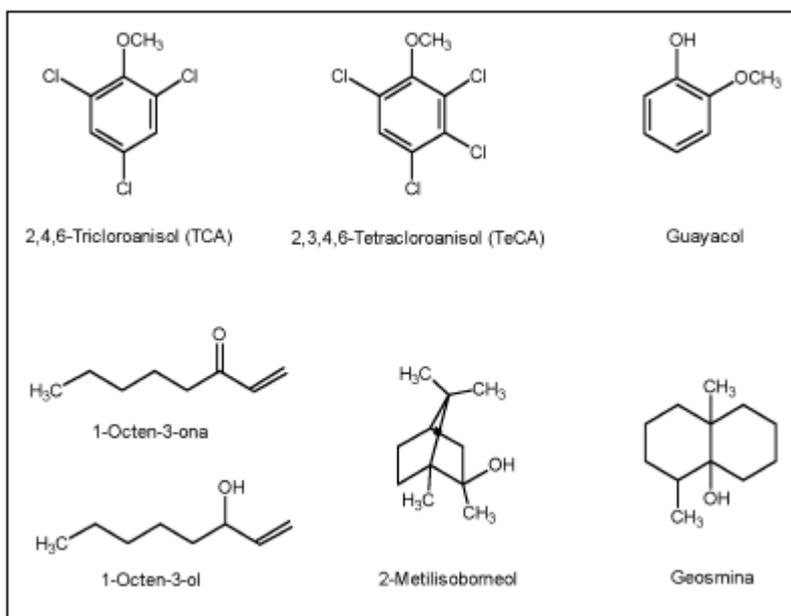


Fig.78- Sustancias identificadas relacionadas con el gusto a corcho

Mohos	Levaduras	Bacterias
<i>Aspergillus</i>	<i>Candida</i>	<i>Bacillus</i>
<i>Cladosporium</i>	<i>Cryptococcus</i>	<i>Micrococcus</i>
<i>Monilia</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>Paecilomyces</i>	<i>Saccharomyces</i>	<i>Streptomyces</i>
<i>Penicillium</i>	<i>Sporodiobolus</i>	
<i>Trichoderma</i>		

Tabla.25- Géneros de microorganismos encontrados en el corcho

2.5.10. Plantas de irradiación de alimentos

Fundamentalmente, todas las plantas de irradiación tienen una estructura parecida y unos elementos comunes:

- Zona de almacenaje de productos a tratar; debe estar perfectamente separada de la zona de almacenaje de productos tratados, para evitar contaminaciones cruzadas
- Zona de carga de los productos para tratar y los dosímetros correspondientes. Los productos deben estar situados encima de la cinta transportadora. Los dosímetros se colocan en diversas posiciones geométricas.
- Cintas transportadoras de productos a tratar; si es necesario permiten girar los productos que necesitan un doble tratamiento (volteador)
- Zona de tratamiento. Celda envuelta en hormigón de 2 m de grosor. Dentro está la fuente de irradiación: el acelerador de electrones o el núcleo radiactivo (barreras de cobalto o cesio). Las cintas hacen un recorrido giratorio para garantizar una dosis homogénea. La dosis total se calcula a partir del tiempo en que el producto está dentro de la zona de tratamiento, según la velocidad de la cinta.
- Sala de refrigeración para el circuito de enfriamiento del acelerador de electrones o piscina de almacenaje de las fuentes de Co^{60} o Cs^{137} . Ambas están encapsuladas dentro de barras de 0,5 m de longitud, de forma que las barras entran verticalmente en la zona de tratamiento y cuando no se utilizan se sumergen en una piscina de agua desionizada

situada bajo tierra a una profundidad mínima de 4 m. Si se utiliza un acelerador es necesario un espacio donde situar el equipo, que puede ser de dimensiones importantes y requiere un sistema de refrigeración. El más usado porque es bastante pequeño, compacto y fiable es el TT100; emite un haz de electrones de energía entre 3 y 10 MeV, tiene una potencia de 35 kW y una capacidad anual de entre 10.000 y 100.000 m³ de volumen irradiado. El modelo TT200 tiene un haz de 80 kW y el TT300 de 150 kW, son más adecuados para dosis altas o grandes volúmenes

- Zona de descarga
- Zona de almacenaje de productos tratados. Antes, hay que añadir un registro de irradiación del producto.
- Sala de control. El funcionamiento es automático y es posible conocer en cada momento la situación de todos los parámetros que controlan el proceso y los elementos de seguridad de la instalación
- Laboratorio de dosimetría. No sólo hay que medir los dosímetros de los productos sino que todo el personal ha de tener la titulación de operador de instalación radiactiva y llevar dosímetro.
- Oficinas y servicios auxiliares

El control de la dosis media que reciben los alimentos se ha de hacer según las normas de la legislación vigente, a partir de la lectura conjunta de dosímetros situados estratégicamente en diversos puntos de todo el volumen del producto a tratar. Para la medida de dosis en alimentos se necesitan de altas energías que puedan medir dosis de entre 0,1 y 1000 kGy. Los más

usados son el Fricke (20 a 400 Gy), el de Ceri (19 a 49 kGy), el de solución de dicromato (2 a 50 kGy), el de alanina (10 a 100kGy) y las películas radiométricas (de 1 a 100 kGy). También hay dosímetros de rutina o control, que cambian de color al ser irradiados y permiten ver rápidamente si un producto has sido irradiado en un rango adecuado; hay de dos tipos: el de degeneración de plásticos (de 5 a 50 kGy) y las películas con colorantes radiométricos (de 100 Gy a 50 kGy).

2.5.11. Legislación vigente

<http://www.iaea.or.at/icgfi/index.html>

http://www.europa.eu.int/comm/food/index_en.html

http://www.europa.eu.int/comm/dgs/healt_consumer/library/pub/pub06_es.pdf