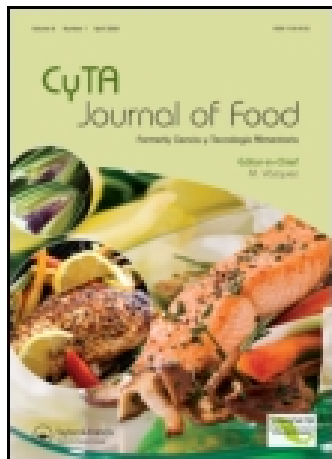


This article was downloaded by: [190.151.168.196]

On: 11 January 2015, At: 14:29

Publisher: Taylor & Francis

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



CyTA - Journal of Food

Publication details, including instructions for authors and subscription information:
<http://www.tandfonline.com/loi/tcyt20>

Pulsos de luz intensa: inactivación microbiana en frutas y hortalizas

A.Y. Ramos-Villaruel^a, O. Martín-Belloso^b & R. Soliva-Fortuny^b

^a Departamento de Biología y Sanidad Animal, Universidad de Oriente, Núcleo Monagas, Av. Universidad, Los Guaritos, 6201 Maturín, Venezuela

^b Departament de Tecnologia d'Aliments, TPV-XaRTA, Universitat de Lleida, Av. Alcalde Rovira Roure 191, 25198 Lleida, España

Published online: 25 Jan 2013.

To cite this article: A.Y. Ramos-Villaruel, O. Martín-Belloso & R. Soliva-Fortuny (2013) Pulsos de luz intensa: inactivación microbiana en frutas y hortalizas, *CyTA - Journal of Food*, 11:3, 234-242, DOI: [10.1080/19476337.2012.728628](https://doi.org/10.1080/19476337.2012.728628)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2012.728628>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Taylor & Francis makes every effort to ensure the accuracy of all the information (the "Content") contained in the publications on our platform. However, Taylor & Francis, our agents, and our licensors make no representations or warranties whatsoever as to the accuracy, completeness, or suitability for any purpose of the Content. Any opinions and views expressed in this publication are the opinions and views of the authors, and are not the views of or endorsed by Taylor & Francis. The accuracy of the Content should not be relied upon and should be independently verified with primary sources of information. Taylor and Francis shall not be liable for any losses, actions, claims, proceedings, demands, costs, expenses, damages, and other liabilities whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with, in relation to or arising out of the use of the Content.

This article may be used for research, teaching, and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, redistribution, reselling, loan, sub-licensing, systematic supply, or distribution in any form to anyone is expressly forbidden. Terms & Conditions of access and use can be found at <http://www.tandfonline.com/page/terms-and-conditions>

REVIEW

Pulsos de luz intensa: inactivación microbiana en frutas y hortalizas

Intense light pulses: microbial inactivation in fruits and vegetables

A.Y. Ramos-Villarroel^a, O. Martín-Belloso^{b*} and R. Soliva-Fortuny^b

^aDepartamento de Biología y Sanidad Animal, Universidad de Oriente, Núcleo Monagas, Av. Universidad, Los Guaritos, 6201 Maturín, Venezuela; ^bDepartament de Tecnologia d'Aliments, TPV-XaRTA, Universitat de Lleida, Av. Alcalde Rovira Roure 191, 25198 Lleida, España

(Received 30 April 2012; final version received 6 September 2012)

Intense light pulses (ILP) represent an emerging processing technology that involves the application of intense flashes of short duration and broad spectrum for surface decontamination of foods. Three mechanisms are proposed to explain the mode of antimicrobial action, involving photochemical, photothermal and photophysical effects. The application of this technology should not exceed fluences of 12 J/cm² with an spectral emission range of 180–1100 nm and a maximum pulse duration of 2 ms. This review introduces the principles, factors and mechanisms of action that affect the antimicrobial activity and potential application of ILP in fruits and vegetables. The effectiveness and impact of ILP on microbial inactivation of fresh and fresh-cut fruits and vegetables, the physicochemical changes that occur in these substrates once treated as well as some recent research works in other food systems are also discussed.

Keywords: intense light pulses; fresh-cut fruits and vegetables; microbial inactivation; quality

Los pulsos de luz intensa (PLI) constituyen una tecnología de procesado emergente que consiste en la aplicación de destellos luminicos de corta duración y amplio espectro para la descontaminación superficial de los alimentos. Para explicar su modo de acción antimicrobiana se han propuesto tres mecanismos: fotoquímico, fototérmico y fotofísico. Según la FDA, los tratamientos no deben exceder los 12 J/cm² con una emisión espectral entre 180–1100 nm y una duración del pulso no superior a 2 ms. En esta revisión se presentan los principios, factores y mecanismos de acción que afectan la actividad antimicrobiana y la aplicación potencial de los PLI en frutas y hortalizas. Además, se tratan los aspectos que condicionan la eficacia y los efectos de los PLI sobre la inactivación microbiana en frutas y hortalizas enteras o cortadas, los cambios físico-químicos que ocurren en estos sustratos una vez tratados y algunas investigaciones recientes en otros sistemas alimentarios.

Palabras clave: pulsos de luz intensa; frutas y hortalizas frescas cortadas; inactivación microbiana; calidad

Introducción

Existen evidencias de que una dieta rica en frutas y hortalizas conlleva múltiples beneficios para la salud, disminuyendo el riesgo de enfermedades tan comunes como el cáncer (Eastwood & Morris, 1992). Su consumo representa un interesante aporte de agua, fibra dietética, vitaminas, minerales, y distintos tipos de componentes bioactivos con elevado potencial antioxidante (Martín-Belloso & Rojas-Graü, 2005). Por ello, los consumidores están orientando sus hábitos de consumo hacia productos que cumplan con estas expectativas. Los cambios en los modelos de consumo están ejerciendo un efecto determinante sobre las áreas de innovación tecnológica, favoreciendo la aparición de tecnologías de procesado que, a la vez de garantizar la seguridad de los alimentos, posean las características organolépticas y nutritivas típicas del producto fresco (Schlimme, 1995). Entre los métodos de conservación innovadores que atienden a las demandas actuales de los consumidores, se han desarrollado nuevas tecnologías de procesado no térmico, que como su nombre indica poseen un efecto térmico mínimo sobre el alimento.

En este contexto los pulsos de luz intensa (PLI) representan una de las tecnologías más prometedoras para asegurar la inactivación de bacterias frecuentemente

asociadas a intoxicaciones alimentarias en frutas y hortalizas. Esta técnica ha recibido diferentes nombres en la literatura científica, tales como pulsos de luz ultravioleta (UV) (Anderson, Rowan, MacGregor, Fouracre, & Farish, 2000; Sharma & Demirci, 2003; Wang, MacGregor, Anderson, & Woolsey, 2005), pulsos de luz de alta intensidad y amplio espectro (Roberts & Hope, 2003), pulsos de luz (Rowan et al., 1999), pulsos luminicos (Barbosa-Cánovas, Pothakamury, Palou, & Swanson, 1998) o pulsos de luz blanca (Marquenie, Michiels, Van Impe, Schrevels, & Nicolai, 2003). Los tratamientos por PLI fueron aprobados por la Food and Drug Administration estadounidense para la descontaminación de alimentos y superficies en contacto con los mismos, con la restricción de utilizar lámparas de gas xenón como fuente de luz, generando pulsos de una duración inferior a 2 ms y que el total de energía incidente en el alimento no exceda de 12 J/cm² (FDA, 2000).

Esta tecnología tiene como objetivo principal ofrecer un producto con una mínima alteración de sus propiedades características (color, sabor, olor, firmeza), con una vida útil que permita una comercialización eficaz del mismo y libre de cualquier microorganismo perjudicial para el consumo humano. Por lo tanto se plantea un doble reto: conservar

*Corresponding author. Email: omartin@tecal.udl.cat

al máximo dichas propiedades y reducir o eliminar cualquier microorganismo patógeno o alterante capaz de alterar el producto.

En esta revisión se presentan los principios básicos que rigen la aplicación de los pulsos de luz intensa, sus efectos y eficacia sobre los diferentes componentes de los alimentos (frutas y hortalizas), los factores involucrados, mecanismos de acción contra los microorganismos y las últimas investigaciones realizadas con esta tecnología emergente.

Fundamentos de la aplicación de pulsos de luz intensa (PLI)

La aplicación de pulsos de luz implica la utilización de luz de alta intensidad comprendida en el rango espectral 180–1100 nm, desde la región ultravioleta a la del infrarrojo cercano, con la finalidad de asegurar la descontaminación microbiológica sobre la superficie de cualquier alimento o material de envasado (Barbosa-Cánovas et al., 1998; Elmnasser et al., 2007). Los equipos de tratamiento suelen disponer de un generador, un condensador que almacena la energía durante un periodo relativamente corto, y un elemento de control que libera la energía de forma súbita en una cámara de tratamiento mediante una lámpara de xenón. La alta energía transmitida a la lámpara produce un destello intenso centrado sobre el área de tratamiento (Elmnasser et al., 2007). Actualmente, existen equipos que permiten aplicar pulsos a frecuencias comprendidas entre 1 y 20 destellos por segundo con una fluencia (densidad energética) por pulso de entre 0,01 y 50 J/cm². La duración de los pulsos suele situarse entre 1 μs y 0,1 s (Barbosa-Cánovas et al., 1998; Dunn, Ott, & Clark, 1995).

Factores críticos del tratamiento por PLI sobre la inactivación microbiana

Como ocurre en la mayoría de técnicas de procesado, la eficiencia microbicida de los PLI depende de un amplio número de factores que determinan la efectividad de esta tecnología.

Fluencia y factores relacionados

Según Gómez-López, Ragaert, Debevere, y Devlieghere (2007), el factor más importante y que determina el efecto de los PLI es la fluencia (medida en J/cm²) incidente sobre la muestra. La fluencia es la energía emitida desde la lámpara que incide en la muestra por unidad de superficie. Factores como la distancia desde la fuente de luz a la muestra, o la naturaleza y grado de limpieza de la vía de propagación afectan al nivel de energía que finalmente alcanza la muestra. El espesor, transparencia y color de la muestra son igualmente factores limitantes, debido a la baja penetrabilidad de la luz UV. La longitud de onda es otro factor que condiciona la eficiencia del proceso (Sawant & Gajakos, 2008), al igual que la duración y el número de pulsos.

Distribución espectral

Diversos estudios sugieren que determinadas regiones del espectro de la luz, especialmente la fracción UV-C, son

responsables de la muerte celular (Davies-Colley, Donminson, & Speed, 1997; Fargues et al., 1997; Woodling & Moraru, 2007). Sin embargo, la composición espectral no determina por sí sola el grado de inactivación microbiana. Ramos-Villarroel, Aron-Maftei, Martín-Belloso, y Soliva-Fortuny (2012) observaron el siguiente orden, de mayor a menor, en la eficiencia antimicrobiana de los tratamientos aplicados con luz de distinta amplitud espectral: 180–1100 nm (espectro completo), 305–1100 nm (espectro completo sin luz UV-C) y 400–1100 nm (solamente VIS y NIR). Los resultados de este estudio mostraron que al suprimirse la fracción espectral ultravioleta, la inactivación de *E. coli* y *L. innocua* disminuyó de forma dramática.

Topografía del sustrato y densidad microbiana

Los microorganismos pueden residir en grietas o irregularidades de la superficie del alimento, a la vez pueden penetrar bajo la superficie del producto y de esta manera disminuir la eficiencia del tratamiento (Lagunas-Solar, Piña, MacDonald, & Bolkan, 2006). En consecuencia, tanto la topografía del sustrato como la densidad microbiana son factores a tener en cuenta cuando se pretende minimizar esta pérdida de efectividad del tratamiento, también denominada como efecto sombra (Uesugi, Woodling, & Moraru, 2007; Woodling & Moraru, 2005).

Productos metabólicos de los microorganismos y color de los sustratos

En un estudio sobre los factores críticos interrelacionados que afectan a la eficacia de los pulsos de luz para la inactivación de patógenos bacterianos clínicamente relevantes, se encontró que la producción de piocianina por ciertas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* proporcionó alguna protección contra la acción germicida de los pulsos de luz a bajos niveles de energía (3,2 y 5 J) usando poblaciones iniciales de ≤ 10⁷ UFC/cm². Los pigmentos y/o mucus proporcionan protección contra la exposición a los pulsos de luz. Esta protección dependerá de la población celular, la energía de descarga de la lámpara y el número de pulsos aplicados (Farell, Garvey, Cormican, Laffey, & Rowan, 2010). Fine y Gervais (2004) concluyeron que el cambio en la modificación del color entre la harina de trigo y la pimienta negra tratada por PLI puede ser explicada por la diferencia en el color inicial. De hecho, se sabe que los productos oscuros absorben más la radiación lumínica que los productos claros y en consecuencia el nivel de inactivación será mayor en los primeros.

Composición del sustrato

Otro factor determinante es la composición del sustrato alimenticio. Las proteínas y grasas disminuyen la eficacia del tratamiento, mientras que el agua y almidón no presentan una variación particular en el proceso de descontaminación (Gomez-López, Devlieghere, Bonduelle, & Debevere, 2005b). Algunas proteínas presentan una mayor absorbancia frente a radiaciones de la región UV-B, específicamente con una longitud de onda cercana a los 280 nm, mientras que los lípidos con dobles enlaces aislados o conjugados presentan una mayor absorción frente a radiaciones ultravioleta (Hollósy, 2002). En general, cuanto más complejo sea el

medio, tanto mayor será la competencia por los radicales libres generados entre los componentes presentes, lo que incidirá en el grado de alteración microbiana (Moraru & Uesugi, 2009).

Además, la composición y estructura del sustrato condicionan el comportamiento de la luz al entrar en contacto con el mismo. De este modo, la radiación puede reflejada, refractada, dispersada o absorbida en varios grados. En el caso de tejidos biológicos, la absorción y la dispersión son los tipos más relevantes de interacción sustrato-luz (Cheong, Prah, & Welch, 1990; Moraru & Uesugi, 2009). Cuanto más corta es la longitud de onda de la radiación, mayor es su capacidad de penetración y absorción por proteínas y grasas, resultando en una menor efectividad del tratamiento. Por lo contrario, los alimentos ricos en carbohidratos y pobres en proteínas y grasas, tales como las frutas y hortalizas son adecuados para la descontaminación por PLI (Gómez-López, Devlieghere, Bonduelle, & Debevere, 2005a).

Tipo de microorganismo

El tipo de microorganismo, así como sus exigencias fisiológicas, bioquímicas y culturales presentan una gran importancia a efectos de su inactivación mediante luz pulsada. Diversos estudios han reportado que las bacterias Gram positivas son más resistentes que las Gram negativas a los tratamientos por PLI (Anderson et al., 2000; Farrell, Garvey, Cormican, Laffey, & Rowan, 2010; Rowan et al., 1999). Diversos estudios llevados a cabo tanto en sistemas in vitro como en alimentos reales han arrojado la siguiente ordenación, en orden decreciente, en referencia a la sensibilidad de los microorganismos frente a la radiación lumínica: bacterias Gram negativas, bacterias Gram positivas y esporas fúngicas. La distinción característica de las bacterias Gram positivas es la composición de su pared celular (Madigan, Martinko, Dunlap, & Clark, 2009). Por lo tanto, la estructura de la pared celular de las bacterias Gram positivas podría generar una protección extra frente a los tratamientos por PLI. Además, se ha tratado de explicar la sensibilidad de las bacterias a la radiación ultravioleta, tomando en cuenta el hábitat característico de estos microorganismos. Hobbs y Roberts (1987), señalaron que los enteropatógenos Gram negativos sensibles a la luz UV se encuentran esencialmente confinados en los tractos alimentarios humano/animal y en consecuencia, desarrollaron muy poca capacidad de resistencia a la radiación UV. Contrariamente, *L. innocua* y otras cepas de bacterias Gram positivas pueden desarrollarse en distintos ambientes expuestas a la radiación solar, lo que intrínsecamente implica una mejor adaptación a la radiación UV (Hobbs & Roberts, 1987).

No obstante, dicha susceptibilidad puede verse condicionada por una gran número de factores por lo que no siempre es fácil establecer patrones de inactivación en función del tipo de microorganismo. Gómez-López et al. (2005b) no pudieron establecer ningún patrón de sensibilidad claro entre diferentes grupos de microorganismos, después de evaluar el efecto de tratamientos con luz pulsada sobre 25 especies de bacterias, mohos y levaduras.

Mecanismo de acción de los pulsos de luz intensa

Hasta el momento, se han señalado tres mecanismos de acción de los PLI: fotoquímico, fototérmico y fotofísico

(Elmnasser et al., 2007; Krishnamurthy, Demirci, & Irudayaraj, 2007; Oms-Oliu, Martín-Belloso, & Soliva-Fontun, 2009; Wuytack et al., 2003). Aunque el mecanismo exacto responsable de la muerte celular aún no está completamente aclarado, la mayoría de los estudios realizados sostienen que la porción UV de la luz, y muy especialmente la fracción de onda corta de dicha radiación, poseen una influencia decisiva sobre la inactivación microbiana (Anderson et al., 2000; Rowan et al., 1999; Wang et al., 2005; Woodling, & Moraru, 2007). Sin embargo, diversos estudios llevados a cabo concluyen que dicha inactivación está íntimamente ligada a efectos fotoquímicos y fototérmicos, además de a un tercer efecto fotofísico (Anderson et al., 2000; Takeshita et al., 2003; Wang et al., 2005; Weskhof, 2001; Wuytack et al., 2003). Es posible que los tres mecanismos coexistan y la importancia relativa de cada uno parece depender de la fluencia y del microorganismo objeto de estudio.

Efecto fotoquímico

Algunos estudios llevados a cabo con luz ultravioleta han permitido explicar el mecanismo fotoquímico de inactivación microbiana. No obstante, a pesar de que el mecanismo de inactivación por PLI puede tener similitudes con el de los tratamientos con luz UV continua, se cree que existen algunas diferencias entre ambos tratamientos (Gómez-López et al., 2007). El efecto germicida de la luz UV ha sido atribuido primeramente a una transformación fotoquímica de las bases de pirimidina (citosina y timina) en el ADN de las bacterias, virus y otros microorganismos para formar dímeros (principalmente dímeros de timina). La formación de tales bandas previenen el entrecruzamiento del ADN para la replicación y el organismo es incapaz de reproducirse (muerte clonogénica). Sin suficientes mecanismos de reparación, tales daños resultan en mutaciones, perjudicando la replicación y la transcripción de genes, y finalmente la muerte del organismo (Bolton & Linden, 2003; MacDonald, Curry, & Hancock, 2000; Panico, 2005; Wang et al., 2005).

Takeshita et al. (2003) indicaron que el efecto letal en las células de levadura por los PLI no es totalmente dependiente del daño al ADN, debido a que se encontró un incremento en la concentración de proteínas eluidas y cambios estructurales solamente en el caso de las células pulsadas. Por lo tanto, los pulsos de luz intensa inducen a daños en la membrana celular. La inactivación de los microorganismos por los PLI se puede considerar como un proceso que tiene diversas consecuencias en la célula. El impacto de los tratamientos de luz pulsada sobre las proteínas, membranas y otros materiales celulares ocurre probablemente a la par con la alteración de los ácidos nucleicos. Diversos trabajos proporcionan un ejemplo claro de ello, mostrando que la motilidad de *E. coli* cesó inmediatamente después de expuesta a pulsos de luz (Sawant & Gajazos, 2008; Wuytack et al., 2003).

Por otro lado el efecto fotoquímico de los PLI sobre los microorganismos puede invertirse mediante iluminación con longitudes de ondas largas, especialmente aquéllas correspondientes al espectro de la luz visible. El mecanismo reparador implicado en este proceso se denomina fotoreactivación (McDonald et al., 2000). Este fenómeno se ha evidenciado en diversas investigaciones (Anderson et al., 2000; Gómez-López et al., 2005a; MacGregor et al., 1997; Otaki et al., 2003; Rowan et al., 1999). En el mecanismo de

fotoactivación interviene la enzima fotoliasa, la cual se une a los dímeros de pirimidina en una reacción independiente de la luz. Luego se requiere un fotón cuya longitud de onda esté comprendida entre 300 y 500 nm para que la enzima pueda donar un electrón al dímero. Esto último inicia una reorganización electrónica que finalmente restablece las dos pirimidinas intactas.

Existen otros dos mecanismos de reparación por daño de luz UV que pueden reactivar las células tratadas por pulsos de luz. El primero implica una reparación en la oscuridad, mediante el cual se consigue la corrección de los dímeros gracias a la intervención de enzimas que actúan en ausencia de luz, restituyendo la información genética adicional (Jungfer, Schwartz, & Obst, 2007; Madigan et al., 2009). El otro mecanismo está específicamente relacionado con las esporas, las cuales pueden repararse por sí mismas mediante el común sistema de escisión y reparación, también denominado sistema de reparación específica. Este mecanismo involucra un proceso de reconocimiento del daño, escisión y resíntesis del ADN en el sitio dañado con ayuda de la enzima ADN-polimerasa (Gómez-López et al., 2007; Setlow, 1992).

Efecto fototérmico

Algunos autores han atribuido el trastorno celular a un efecto fototérmico causado por la absorción de la luz UV cuando la fluencia es excesiva ($< 12 \text{ J/cm}^2$) (Hiramoto, 1984; Wekhof, 2000, 2001). La consecuencia del efecto fototérmico en el microorganismo que absorbe la radiación, es la elevación de la temperatura produciendo incisión y ablación de la célula bacteriana. La constitución química de los diferentes componentes de una célula es la que determina la longitud de onda específica de radiación electromagnética absorbida, lo que se conoce como “pico de absorción”.

Existen evidencias que apoyan la hipótesis que un calentamiento altamente localizado puede causar la muerte celular (Wekhof, 2000). Se conoce que la temperatura de la muestra se incrementa después de exposición a niveles de radiación lumínica con capacidad bactericida. Teniendo en cuenta que las proteínas son sensibles al calor, es razonable pensar que incluso bajas dosis de radiación lumínica puedan jugar un rol en la muerte celular a causa de la interacción sobre las funciones proteicas relacionadas con las actividades de los ácidos nucleicos (Cover, Holloway, Xue, & Busby, 2001; Panico, 2005).

Según Farrell et al. (2010), el calentamiento intracelular puede contribuir significativamente a la eficacia germicida de los PLI. A pesar de que el incremento en la temperatura de la superficie del sustrato no excede de $4.2 \pm 0.2^\circ\text{C}$ después del procesado, el sobrecalentamiento localizado de los constituyentes celulares internos deber ser tomado en cuenta. Por ejemplo Wekhof (2001) ilustró microfotografías electrónicas de esporas deformadas de *Aspergillus niger* tratadas por PLI, mostrando rupturas, que proporcionan evidencia de la liberación de sus contenidos celulares sobrecalentados.

Efecto fotofísico

El impacto de los pulsos de luz sobre las membranas, proteínas y otros materiales celulares está relacionado probablemente con la destrucción de los ácidos nucleicos. En las células pueden ocurrir cambios estructurales, como por ejemplo distorsión en la membrana celular, que induce

cambios en la forma de la célula (Elmnasser et al., 2007). Algunas investigaciones han demostrado tal efecto en diferentes sustratos, como por ejemplo deformación de esporas de *Aspergillus niger* (Wekhof, 2001), células de *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* (Wuytack et al., 2003), células de bacterias enteropatógenas de origen alimentario (Anderson et al., 2000), células de *Staphylococcus aureus* (Krishnamurthy, Tewari, Irudayaraj, & Demirci, 2008) y células de *Saccharomyces cerevisiae* (Takeshita et al., 2003). Estas evidencias de alteración física son el resultado del colapso estructural de las células microbianas, que pueden derivarse de los dos efectos anteriores (fotoquímico y fototérmico). Un estudio reciente realizado por Ramos-Villarreal et al. (2012) demostró mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) daños significativos en el citoplasma celular con cambios en la membrana citoplasmática de las células de *E. coli* y *L. innocua* inoculadas en champiñones frescos cortados expuestos a tratamientos de 12 J/cm^2 . Estos autores observaron que las microfotografías obtenidas por TEM corroboran los resultados de inactivación. A su vez, dichas observaciones confirmaron una alteración más pronunciada a nivel celular para *E. coli* (bacteria Gram negativa) que para *L. innocua* (bacteria Gram positiva). Sin embargo, las evidencias mostradas por este y otros trabajos similares son únicamente el principio de muchos estudios necesarios sobre los mecanismos de acción de los PLI en alimentos, que permitirán establecer la eficacia y los efectos sobre los microorganismos de distintos rangos espectrales de la luz.

Aplicación de pulsos de luz intensa sobre los microorganismos en frutas y hortalizas

De los pocos estudios que se han realizado en frutas y hortalizas, es necesario mencionar que los diversos factores críticos del proceso, las diferencias en los equipos, las condiciones experimentales de los estudios realizados, incluido la variedad de sustratos utilizados, limitan la comparación de la efectividad de los pulsos de luz intensa sobre los microorganismos. Sin embargo, las distintas investigaciones llevadas a cabo hasta el momento permiten arrojar diversas conclusiones útiles de cara a futuras investigaciones. La Tabla 1 muestra un resumen de los resultados más relevantes con respecto a la inactivación microbiana mediante tratamientos con PLI en frutas y hortalizas.

Frutas enteras

Se ha evaluado la aplicación de PLI para la desinfección de frutas frescas (Lagunas-Solar et al., 2006). Los microorganismos utilizados fueron *Alternaria alternate*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium roseum*, *Monilinia fructicola*, *Penicillium expansum*, *P. digitatum* y *Rhizopus stolonifer*, alcanzándose una inactivación total después de la exposición a tratamientos con $0,5 \text{ J/cm}^2$ empleando luz de 248 nm para la mayoría de mohos, con la excepción de *A. niger*, que requirió dosis de $1,9 \text{ J/cm}^2$. Marquenie et al. (2003) no encontraron inactivación de *Botrytis cinerea* inoculada sobre fresas después de un tratamiento con una intensidad de 7 J. Los autores concluyeron que los resultados obtenidos se debieron a una dosis insuficiente y exposición inadecuada de las muestras.

Tabla 1. Inactivación microbiana en frutas y hortalizas tratadas con pulsos de luz intensa.

Table 1. Microbial inactivation in fruits and vegetables treated with intense light pulses.

Sustrato Tratado	Microorganismo	Fluencia (J/cm ²)	Número de pulsos	Inóculo Log UFC/mL	Reducción Log UFC/g	Referencia
Manzanas, naranjas, Kiwi, limones, melocotón, peras, frambuesas, nectarinas y uvas de mesa	<i>Alternaria</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Monilinia</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Phytophthora</i>	0–10	-	3–5	> 5 Log	Lagunas-Solar et al., 2006
Fresas	<i>Botrytis cinerea</i>	7/pulso	3750	5,7	< 1 Log	Marquenie et al., 2003
Frambuesas	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	22,6	180	6	4,3	Bialka & Demirci, 2007
Frambuesas	<i>Salmonella</i>	22,6	180	6	2,9	Bialka & Demirci, 2007
Fresas	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	25,7	15–180	5	2,1	Bialka & Demirci, 2008
Fresas	<i>Salmonella</i>	34,2	15–180	5	2,8	Bialka & Demirci, 2008
Frambuesas	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	74	15–180	5	3,9	Bialka & Demirci, 2008
Frambuesas	<i>Salmonella</i>	59,4	15–180	5	3,4	Bialka & Demirci, 2008
Aguacate	<i>Listeria innocua</i>	6 y 12	15 y 30	8	2,61 y 2,97	Ramos-Villarroel et al., 2011a
	<i>Escherichia coli</i>	6 y 12	15 y 30	8	2,90 y 3,33	Ramos-Villarroel et al., 2011a
Aguacate	<i>Listeria innocua</i>	12	30	8	3	Ramos-Villarroel et al., 2011b
Repollo blanco, puerro, pimiento dulce, zanahorias y col rizada	Aerobios mesófilos	0,30	2	-	1,6–2,6 Log/cm ²	Hoonstra et al., 2002
Espinacas, apio, lechuga, repollo blanco, zanahorias,	Aerobios mesófilos	7	2700	6,5	0,21–2,04 Log	Gómez-López et al., 2005a
Zanahorias	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,7/pulso	24	5,28	~6	Kaack & Lyager 2007

Bialka y Demirci (2007), registraron reducciones máximas de 4,3 y 2,9 log UFC/mL a 22,6 J/cm² para *Salmonella* y *Escherichia coli* O157:H7, respectivamente, después de 60 s de tratamientos con PLI para descontaminar frambuesas. Estos mismos autores (Bialka & Demirci, 2008) utilizaron tratamientos con luz pulsada para descontaminar frutos rojos tales como fresas y frambuesas. Las reducciones máximas de *E. coli* O157:H7 y *Salmonella* se registraron después de aplicar dosis de 72 y 59,4 J/cm² durante 60 s, con valores de 3,9 a 3,4 log UFC/g para frambuesas y de 2,1 a 2,8 log UFC/g para fresas después de exposiciones frente a 25,7–34,2 J/cm². En este estudio se concluyó que las diferencias en los valores de inactivación microbiana obtenidas para las dos frutas podrían atribuirse a los efectos sombra o protector, favorecidos por la distinta morfología de los frutos. La presencia de aquenios sobre fresas y los espacios entre drupas pequeñas sobre las frambuesas pueden proteger los microorganismos de la luz ocasionando solo desinfección parcial. Esta problemática también ha sido descrita por otros autores (Gómez-López et al., 2005a; Lagunas-Solar et al., 2006).

Fruta cortada

Ramos-Villarroel, Martín-Belloso, y Soliva-Fortuny (2011a), registraron reducciones logarítmicas significativas de *L. innocua* (2,61 y 2,97 log UFC/g) y *Escherichia coli* (2,90 y 3,33 log UFC/g) después del tratamiento con 6 y 12 J/cm² respectivamente, para aguacate fresco cortado. Las poblaciones de *E. coli* y *L. innocua* se inactivaron cuanto mayor fue la intensidad del tratamiento. Este estudio demostró que *E. coli* es más sensible a los PLI que *L. innocua*. Al respecto, similares resultados obtuvieron Gómez, Salvatori, García-

Loredo, y Alzamora (2011) quienes trataron manzanas cortadas por 100 s (221,1 J/cm²) de tratamientos con PLI, obteniendo reducciones de *E. coli* ATCC 11229 y *L. innocua* ATCC 33090 de 2,25 y 1,7 unidades logarítmicas, respectivamente.

Hortalizas enteras

Se ha demostrado la inactivación de microorganismos presentes naturalmente sobre la superficie de diferentes hortalizas usando PLI. Hoonstra, de Jong, y Notermans (2002), evaluaron cinco hortalizas: repollo blanco, puerro, pimiento dulce, zanahorias y col rizada, los cuales se sometieron a una fluencia total de 0,30 J/cm². La reducción en los recuentos aeróbicos varió de 1,6 log UFC/cm² para zanahorias a > 2,6 log UFC/cm² para pimiento dulce. Este estudio indicó que el tipo de producto influyó en la inactivación por los PLI.

Hortalizas cortadas

El efecto de la descontaminación por los PLI sobre diversas hortalizas mínimamente procesadas también ha sido estudiado. Gómez-López et al. (2005a) reportaron entre 0,56 y 2,04 reducciones logarítmicas en los recuentos de microorganismos aerobios mesófilos al tratar espinacas, apio, lechuga, repollo blanco, zanahorias, pimienta verde y brotes de soja con 7 J por ambos lados. Estos autores concluyeron que las diferencias en los niveles de inactivación entre las muestras podrían estar relacionados con diferencias en la resistencia de la población microbiana nativa de cada hortaliza, la ubicación de los microorganismos (efecto sombra), y/o la

presencia de sustancias protectoras propias de algunas hortalizas. Kaack y Lyager (2007), realizaron un estudio con zanahorias cortadas inoculadas con *Saccharomyces cerevisiae* que posteriormente fueron lavadas usando agua destilada y 0,9% (p/p) de cloruro de sodio (NaCl) en combinación con pulsos de luz, concluyendo que esta combinación de tratamientos puede reducir la carga de levaduras cerca de 6 ciclos logarítmicos utilizando tratamientos con una fluencia acumulada de 16,8 J/cm². Estos autores señalaron que existen diversos mecanismos que permiten a los microorganismos fijarse al alimento, incluyendo a las bacterias, mohos y levaduras. Estos mecanismos dependen de las fuerzas de Van der Waals así como de interacciones electrostáticas. El índice de anclaje puede ser incrementado significativamente por apéndices celulares tales como pilis o flagelos y por exudación de proteínas y exopolisacáridos que sujetan la célula a los sustratos o superficies sólidas. De esta manera se protegen de lavados o posibles factores adversos externos. El anclaje de una bacteria es rápido y puede ocurrir en unos pocos segundos, mientras que el establecimiento de una colonia puede tomar de 1 a 2 horas.

En general las investigaciones realizadas hasta el momento indican que los factores del proceso así como aquellos inherentes al producto tienen un efecto determinante en la efectividad de los tratamientos por PLI, de tal manera que es necesario ampliar los estudios sobre: dosis efectiva para cada alimento, tipo de producto a evaluar (específicamente su estructura y composición) y la microflora objeto de estudio, todo ello con la finalidad de obtener alimentos microbiológicamente seguros y de alta calidad.

Cambios fisicoquímicos en frutas y hortalizas tratados por pulsos de luz intensa

El estado fisiológico de los productos vegetales, especialmente de las frutas y hortalizas puede influir mucho en su calidad. Sin embargo, el tratamiento posterior que se le aplica a estos productos determina finalmente su aceptación comercial. Son varias las características que definen a un producto fresco cortado de buena calidad. Apariencia fresca, textura aceptable, buen sabor y olor, seguridad microbiológica y vida útil suficientemente larga que permita incluir al producto dentro de un sistema de distribución, son algunos de los requisitos para que un producto sea considerado de calidad. Si alguno de estos requisitos no se cumple o se encuentra por debajo de los valores mínimos aceptables para cada parámetro, el producto pierde automáticamente su valor comercial (Martín-Belloso & Rojas-Graü, 2005).

En la literatura existen pocos trabajos sobre los cambios físico-químicos ocurridos después de los tratamientos por PLI en frutas y hortalizas, sin embargo algunas consideraciones sobre estos estudios son necesarias de cara a futuras investigaciones. Dunn et al. (1989) señalaron que la aplicación de 2-5 pulsos de luz con una fluencia de 3 J/cm² permitió una mejor conservación del color de rodajas de patata después de un almacenamiento prolongado, mientras que las muestras no tratadas rápidamente comenzaron a pardearse. El extracto de polifenol oxidasa recuperado de las muestras tratadas exhibió menor actividad que las muestras sin tratamiento. Estos autores señalaron que los pulsos de luz también pueden incrementar la tasa respiratoria de las hortalizas. Por otro lado, Hoornstra et al. (2002), no

encontraron efectos adversos en la calidad sensorial de distintas hortalizas tratadas con tres pulsos y almacenadas a 7 y 10°C durante 7 días, con la excepción de la lechuga iceberg, la cual mostró signos de decoloración después de 48 h a temperatura de 20°C. Por el contrario, Gómez-López et al. (2005a) observaron pérdidas en la calidad sensorial de las lechugas y repollos mínimamente procesados tratados por PLI, detectándose mal olor y sabor, textura húmeda y gomosa, pardeamiento en la superficie de las hojas y marchitamiento. Los autores concluyeron que el fracaso en la prolongación de la vida útil de estas hortalizas no necesariamente se debió a la ineficacia de los PLI, sino que tal vez sucedió como consecuencia de condiciones de almacenamiento inadecuadas. Los mismos autores reportaron un incremento del 80% en la tasa de respiración de la lechuga iceberg cortada, pero si ningún efecto significativo en la tasa de respiración del repollo blanco cortado tratado bajo las mismas condiciones. Por otro lado, Bialka y Demirci (2008) no detectaron diferencias significativas en cuanto al color de frambuesas y fresas tratadas. Los valores de L*, a* y b* fueron similares en ambos casos. El tratamiento para frambuesas fue de 72 J/cm² aplicados durante 60 s, mientras que las fresas se trataron con 34,3 J/cm² durante 30 s. Además, Aguiló-Aguayo, Soliva-Fortuny, y Martín-Belloso (2010), investigaron el efecto del pardeamiento en peras frescas cortadas tratadas con PLI a diferentes estados de madurez. Los PLI no tuvieron efecto negativo sobre el color de las peras sino todo lo contrario, puesto que se observó un retraso en los fenómenos de pardeamiento enzimático.

Recientemente Ramos-Villaruel et al. (2011a) evaluaron algunos parámetros de calidad de aguacate fresco cortado tratado por PLI, señalando que las concentraciones de oxígeno en el interior del envase disminuyeron significativamente, mientras que las concentraciones de CO₂ y etanol se incrementaron dramáticamente debido al incremento respiratorio del producto. La aplicación de altas fluencias (12 J/cm²) afectó al color y la firmeza del aguacate, causando pardeamiento y ablandamiento. En este trabajo se concluyó que los tratamientos con PLI causaron un cambio sustancial en la actividad respiratoria de aguacate cortado, hecho que hay que tomar en consideración a la hora de diseñar envases para productos frescos cortados que vayan a ser sometidos a tratamientos por PLI. Por otro lado, a pesar de que los PLI pueden extender la vida útil microbiológica del aguacate fresco cortado, su combinación con sistemas de envasado adecuado y el uso de compuestos estabilizantes de la calidad son necesarios para mejorar su calidad física y química. Otro estudio realizado por Ramos-Villaruel, Martín-Belloso, y Soliva-Fortuny (2011b) demostró que los tratamientos con pulsos de luz pueden ser combinados exitosamente con el uso de compuestos estabilizadores de la calidad, con el fin de prolongar la vida útil del producto. En este sentido, la aplicación de disoluciones acuosas de L-cisteína (2%), ácido cítrico (1%) y lactato de calcio (1%) fueron efectivas para prevenir el pardeamiento y ablandamiento de la pulpa de aguacate sometida a los tratamientos de luz pulsada.

Por otro lado, Gómez et al. (2011) investigaron el efecto de los PLI sobre el color y la microestructura de manzanas cortadas durante 7 días de almacenamiento refrigerado. Estos autores indicaron que las superficies de manzanas cortadas expuestas a altas fluencias se tornaron oscuras (menores valores de L*) y menos verdes (valores crecientes de a*) comparadas con el control y su efecto fue más

Tabla 2. Investigaciones recientes en diferentes sustratos alimenticios utilizando tratamientos de pulsos de luz intensa.

Table 2. Recent research works on different food substrates subjected to intense pulsed light treatments.

Sustrato tratado	Microorganismo	Fluencia (J/cm ²)	Número de pulsos	Inóculo (Log UFC/mL)	Reducción Log UFC/g ó mL	Referencia
Huevos	<i>Salmonella</i> Enteritidis	1/pulso	2–12	4–6	1,8–3,6	Hierro et al., 2009
Jugo de manzana	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	1,1/pulso	1–12	9	2,52 Log	Sauer & Moraru, 2009
Jugo de manzana	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25992	1,1/pulso	1–12	9	2,66 Log	Sauer & Moraru, 2009
Sidra de manzana	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	1,1/pulso	1–12	9	3,22 Log	Sauer & Moraru, 2009
Sidra de manzana	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25992	1,1/pulso	1–12	9	2,32 Log	Sauer & Moraru, 2009
Salchichas de pollo	<i>Listeria monocytogenes</i>	1,27/pulso	15–180	8	0,1–1,9	Keklik et al., 2009
Alimentos infantiles	<i>Listeria monocytogenes</i>	nd	nd	5	4–5	Choi et al., 2010
Bayas de pimienta negra	Hongos totales	1,170; 0,783 y 1,393	10; 20 y 30	-	< 1 Log	Oniciuct et al., 2010
Semillas de mostaza	Hongos totales	1,170; 0,783 y 1,393	10; 20 y 30	-	3 Log	Oniciuct et al., 2010
Pollo	<i>Salmonella</i> Typhimurium	5,4	nd	7	2 Log	Paskeviciute et al., 2010
Pollo	<i>Listeria monocytogenes</i>	5,4	nd	7	2,4 Log	Paskeviciute et al., 2010
Jugo de manzana	<i>Escherichia coli</i>	7; 14 y 28	nd	6	2,65; 4,5 y 4,7	Palgan et al., 2011
Jugo de manzana	<i>Listeria innocua</i>	7; 14 y 28	nd	6	1,1; 1,4 y 1,93	Palgan et al., 2011
Jugo de naranja	<i>Escherichia coli</i>	7; 14 y 28	nd	6	~ 1	Palgan et al., 2011
Jugo de naranja	<i>Listeria innocua</i>	7; 14 y 28	nd	6	~ 1	Palgan et al., 2011
leche	<i>Escherichia coli</i>	7; 14 y 28	nd	6	0,51; 0,62 y 0,84	Palgan et al., 2011
leche	<i>Listeria innocua</i>	7; 14 y 28	nd	6	0,61, 0,99 y 1,06	Palgan et al., 2011
Jugo de naranja	<i>Escherichia coli</i>	4,03 y 5,1	nd	nd	1,87 y 2,2	Muñoz et al., 2011
Cáscara de huevos	<i>Salmonella</i>	2,1	3	6	5 Log UFC/cáscara	Lasagabaster et al., 2011
Champiñón	<i>Listeria innocua</i>	6 y 12	15 y 30	8	2,02 y 3,03	Ramos-Villarroel et al., 2012
Champiñón	<i>Escherichia coli</i>	6 y 12	15 y 30	8	1,77 y 2,66	Ramos-Villarroel et al., 2012

pronunciado al incrementarse la dosis de PLI y el tiempo de almacenamiento. Por el contrario, menores dosis de PLI no causaron cambios significativos en el color original de los trozos de manzana durante su almacenamiento. Por otro lado, las imágenes microscópicas de las muestras tratadas mostraron paredes degradadas, además del plasmalema y tonoplasto rotos.

Resultados publicados recientemente en alimentos distintos a las frutas y hortalizas tratadas por PLI

Como contribución al conocimiento de las investigaciones realizadas recientemente en sustratos alimenticios distintos a las frutas y hortalizas, que son el objeto de esta revisión, la Tabla 2 muestra un resumen de algunos trabajos presentados desde el año 2009 hasta la fecha actual, utilizando la tecnología de pulsos de luz intensa para la inactivación de microorganismos.

Conclusiones

Los resultados de los estudios discutidos en esta revisión demuestran que la aplicación de los pulsos de luz intensa como tecnología no térmica emergente tiene un gran potencial para la producción de alimentos microbiológicamente seguros y de alta calidad. La consecución de reducciones microbianas significativas mediante la aplicación de tratamientos de corta duración y su gran flexibilidad son algunos de los principales beneficios de esta tecnología. El conocimiento de los mecanismos de inactivación y el número

de estudios en alimentos se ha incrementado considerablemente. Sin embargo, es necesario profundizar en el estudio de las propiedades nutricionales y sensoriales de los alimentos tratados. Además es necesario identificar y optimizar los parámetros críticos del proceso para aplicaciones alimentarias específicas. Por otro lado, los resultados obtenidos hasta el momento sugieren que el enfoque más adecuado para la aplicación industrial de los tratamientos con pulsos de luz intensa es la combinación con otros tratamientos, buscando el establecimiento de interacciones sinérgicas entre ellos. A modo de resumen se puede afirmar que los PLI constituyen una alternativa factible para las industrias procesadoras, permitiendo incrementar la seguridad y vida útil de frutas y hortalizas frescas cortadas.

Agradecimientos

Al Ministerio español de Ciencia y Tecnología que apoyó este trabajo a través del proyecto AGL 2006-04775. La Coordinación de Recursos Humanos de la Universidad de Oriente, Venezuela, por concederle una beca para los estudios doctorales de Ana Yndira Ramos Villarroel. La Prof. Olga Martín Belloso agradece la concesión del Premio ICREA Academia.

Referencias

- Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2010). The effect of pulsed light treatment on enzymatic browning of fresh-cut Anjou and Taylor Gold pears at different stages of ripeness. In *Annual meeting of institute of food technologists* (p. 113). Chicago, USA: Book of Abstracts.

- Anderson, J.G., Rowan, N.J., MacGregor, S.J., Fouracre, R.A., & Farish, O. (2000). Inactivation of food-borne enteropathogenic bacteria and spoilage fungi using pulsed-light. *IEEE Transactions on Plasma Science*, *28*, 83–88.
- Barbosa-Cánovas, G.V., Pothakamury, U.R., Palou, E., & Swanson, B.G. (1998). *Nonthermal preservation of foods*. New York: Marcel Dekker.
- Bialka, K.L., & Demirci, A. (2007). Decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on blueberries using ozone and pulsed UV-light. *Journal of Food Science*, *72*, 391–690.
- Bialka, K.L., & Demirci, A. (2008). Efficacy of pulsed UV-light for the decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. on raspberries and strawberries. *Journal of Food Science*, *73*, M201–M207.
- Bolton, J.R., & Linden, K.G. (2003). Standardization of methods for fluence (UV dose) determination in bench-scale UV experiments. *Journal of Environmental Engineering*, *129*, 209–215.
- Cheong, W., Prah, S.A., & Welch, A.J. (1990). A review of the optical properties of biological tissues. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, *26*, 2166–2185.
- Choi, M.S., Cheigh, C.I., Jeong, E.A., Shin, J.K., & Chung, M.S. (2010). Nonthermal sterilization of *Listeria monocytogenes* in infant foods by intense pulsed-light treatment. *Journal of Food Engineering*, *97*, 504–509.
- Cover, W.H., Holloway, J.M., Xue, H., & Busby, T.F. (2001). Inactivation of lipid enveloped and non enveloped viruses in human plasma proteins with Broad Spectrum Pulsed Light. In *Plasma product biotechnology meeting* (pp. 42–45). Downstream: Abstracts.
- Davies-Colley, R.J., Donminson, A.M., & Speed, D.J. (1997). Sunlight wavelengths inactivating faecal indicator microorganisms in waste stabilisation ponds. *Water Science and Technology*, *35*, 219–225.
- Dunn, J.E., Clark, R.W., Asmus, J.F., Pearlman, J.S., Boyer, K., & Painchaud, F. (1989). *Methods for preservation of food-stuffs*. U.S. Patent No. 4871559. San Diego: United States Patent and Trademark Office.
- Dunn, J., Ott, T., & Clark, W. (1995). Pulsed light treatment of food and packaging. *Food Technologist*, *49*, 95–98.
- Eastwood, M.A., & Morris, E.R. (1992). Physical properties of dietary fiber that influence physiological function. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *55*, 436–442.
- Elmnasser, N., Guillou, S., Leroi, F., Orange, N., Bakhrouf, A., & Federighi, M. (2007). Pulsed-light system as a novel food decontamination technology: A review. *Journal of Microbiology*, *53*, 813–821.
- Farrell, H.P., Garvey, M., Cormican, M., Laffey, J.G., & Rowan, N.J. (2010). Investigation of critical inter-related factors affecting the efficacy of pulsed light for inactivating clinically relevant bacterial pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, *108*, 1494–1508.
- Fargues, J., Rougier, M., Goujet, R., Smits, N., Coustere, C., & Itier, B. (1997). Inactivation of conidia of *Paecilomyces fumosoroseus* by near-ultraviolet (UVB and UVA) and visible radiation. *Journal of Invertebrate Pathology*, *69*, 70–78.
- FDA (Food and Drug Administration). (2000). *Food and Drug Administration issues approval for pulsed UV light in the production, processing and handling of food*. Code 21CFR179.41.438. Silver Spring, MD: FDA.
- Fine, F., & Gervais, P. (2004). Efficiency of pulsed UV light for microbial decontamination of food powders. *Journal of Food Protection*, *67*, 787–792.
- Gómez-López, V.M., Devlieghere, F., Bonduelle, V., & Debevere, J. (2005a). Intense light pulses decontamination of minimally processed vegetables and their shelf-life. *International Journal of Food Microbiology*, *103*, 79–89.
- Gómez-López, V.M., Devlieghere, F., Bonduelle, V., & Debevere, J. (2005b). Factors affecting the inactivation of microorganisms by intense light pulses. *Journal of Applied Microbiology*, *99*, 460–470.
- Gómez-López, V.M., Ragaert, P., Debevere, J., & Devlieghere, F. (2007). Pulsed light for food decontamination: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *18*, 464–473.
- Gómez, P.L., Salvatori, D., García-Loredo, A., & Alzamora, S. (2011). Pulsed light treatment of cut apple: Dose effect on color, structure and microbiological stability. *Food and Bioprocess Technology*. doi 10.1007/s11947-011-0598-3.
- Hierro, E., Manzano, S., Ordóñez, J.A., de la Hoz, L., & Fernández, M. (2009). Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on shell eggs by pulsed light technology. *International Journal of Food Microbiology*, *135*, 125–130.
- Hiramoto, T. (1984). *Method of sterilization*. U.S. Patent No. 4464336. Tokyo, Japan: United States Patent and Trademark Office.
- Hobbs, B.C., & Roberts, D. (1987). Food poisoning and food-borne infection. In B.C. Hobbs, & D. Roberts (Eds.), *Food Poisoning and Food Hygiene* (pp. 3–120). London: E. Arnold.
- Hollósy, F. (2002). Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron*, *33*, 179–197.
- Hoonstra, E., de Jong, G., & Notermans, S. (2002). Preservation of vegetables by light. In *Conference frontiers in microbial fermentation and preservation* (pp. 75–77). The Netherlands: Wageningen.
- Jungfer, C., Schwartz, T., & Obst, U. (2007). UV-induced dark repair mechanisms in bacteria associated with drinking water. *Water Research*, *41*, 188–196.
- Kaack, K., & Lyager, B. (2007). Treatment of slices from carrot (*Daucus carota*) using high intensity white pulsed light. *European Food Research and Technology*, *224*, 561–566.
- Keklik, N.M., Demirci, A., & Puri, V.M. (2009). Inactivation of *Listeria monocytogenes* on unpackaged and vacuum-packaged chicken frankfurters using pulsed UV-light. *Journal of Food Science*, *74*, M431–M439.
- Krishnamurthy, K., Demirci, A., & Irudayaraj, J.M. (2007). Inactivation of *Staphylococcus aureus* in milk using flow-through pulsed UV-light treatment system. *Journal of Food Science*, *72*, M233–M239.
- Krishnamurthy, K., Tewari, J.C., Irudayaraj, J., & Demirci, A. (2008). Microscopic and spectroscopic evaluation of inactivation of *Staphylococcus aureus* by pulsed UV light and infrared heating. *Food and Bioprocess Technology*. *3* (1), 93–104.
- Lagunas-Solar, M.C., Piña, C., MacDonald, J.D., & Bolkan, L. (2006). Development of pulsed UV light processes for surface fungal disinfection of fresh fruits. *Journal of Food Protection*, *69*, 376–384.
- Lasagabaster, A., Arbolea, J.C., & Martínez I. (2011). Pulsed light technology for surface decontamination of eggs: Impact on *Salmonella* inactivation and egg quality. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. doi: 10.1016/j.ifset.2011.01.007.
- MacGregor, S.J., Rowan, N.J., McIlvaney, L., Anderson, J.G., Fouracre, R.A., & Farish, O. (1997). Light inactivation of food-related pathogenic bacteria using a pulsed power source. *Letters in Applied Microbiology*, *27*, 67–70.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V., & Clark, D.P. (2009). *Brock. Biology of the microorganisms*. 12th ed. San Francisco, CA: Pearson Education S.A.
- Marquenie, D., Michiels, C.W., Van Impe, J., Schrevens, E., & Nicolai, B.M. (2003). Pulsed white light in combination with UV-C and heat to reduce storage rot of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, *28*, 455–461.
- Martín-Belloso, O., & Rojas-Graü, M.A. (2005). *Factores que afectan la calidad de productos vegetales cortados. Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados*. Hermosillo, México: CIAD-Hermosillo. ISBN: 968-58-6206-0.
- McDonald, K.F., Curry, R.D., Clevenger, T.E., Unklesbay, K., Eisenstark, A., & Golden, J. (2000). A comparison of pulsed & continuous ultraviolet light sources for the decontamination of surfaces. *IEEE Transactions on Plasma Science*, *28*, 1581–1587.
- Moraru, C.I., & Uesugi, A.R. (2009). Pulsed-light treatment principles and applications. In T.N. Koutchma, L.J. Forney, & C.I. Moraru (Eds.), *Ultraviolet light in food technology. principles and applications* (vol. 278, pp. 235–265). London: CRC Press.
- Muñoz, A., Palgan, I., Noci, F., Morgan, D.J., Cronin, D.A., Whyte, P., & Lyng, J.G. (2011). Combinations of high intensity light pulses and thermosonication for the inactivation of *Escherichia coli* in orange juice. *Food Microbiology*. doi:10.1016/j.fm.2011.04.005.
- Oms-Oliu, G., Martín-Belloso, O., & Soliva-Fortuny, R. 2009. Pulsed light treatments for food preservation. A review. *Food and Bioprocess Technology*, *3*(1), 13–23.
- Oniciuc, E.A., Gitin, L., Ciortan, S., Maftei, N., Nicolaut, A. (2010). Intense light pulses effect on fungal burden of mustard and black pepper. *Food and Environment Safety*, *4*, 112–117.

- Otaki, M., Okuda, A., Tajima, K., Iwasaki, T., Kinoshita, S., & Ohgaki, S. (2003). Inactivation differences of microorganisms by low pressure UV and pulsed xenon lamps. *Water Science and Technology*, *47*, 185–190.
- Palgan, I., Caminiti, I.M., Muñoz, A., Noci, F., Whyte, P., Morgan, D.J., ... Lyng, J.G. (2011). Effectiveness of High Intensity Light Pulses (HILP) treatments for the control of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in apple juice, orange juice and milk. *Food Microbiology*, *28*, 14–20.
- Panico, L. (2005). Instantaneous sterilization with pulsed UV Light. In *Workshop: Emerging food processing technologies USDA, CSREES* (pp. 26–27). Washington, DC: State University.
- Paskeviciute, E., Buchovec, I., & Luksiene, Z. (2011). High-power pulsed light for decontamination of chicken from food pathogens: A study on antimicrobial efficiency and organoleptic properties. *Journal of Food Safety*, *31*, 61–68.
- Ramos-Villarroel, A.Y., Martín-Belloso, O., & Soliva-Fortuny, R. (2011a). Bacterial inactivation and quality changes in fresh-cut avocado treated with intense light pulses. *European Food Research and Technology*, *233*, 395–402.
- Ramos-Villarroel, A.Y., Martín-Belloso, O., & Soliva-Fortuny, R. (2011b). Using anti-browning agents to enhance quality and safety of fresh-cut Avocado treated with intense light pulses. *Journal of Food Science*, *76*, S528–S534.
- Ramos-Villarroel, A.Y., Aron-Maftei, N., Martín-Belloso, O., & Soliva-Fortuny, R. (2012). The role of pulsed light spectral distribution in the inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* on fresh-cut mushrooms. *Food Control*, *24*, 206–213.
- Roberts, P., & Hope, A. (2003). Virus inactivation by high intensity 851 broad spectrum pulsed light. *Journal of Virological Methods*, *110*, 61–65.
- Rowan, N.J., MacGregor, S.J., Anderson, J.G., Fouracre, R.A., McIlvaney, L., & Farish, O. (1999). Pulsed-light inactivation of food-related microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, *65*, 1312–1315.
- Sauer, A., & Moraru, C.I. (2009). Inactivation of *E. coli* ATCC 25922 and *E. coli* O157:H7 in apple juice and apple cider using Pulsed Light treatment. *Journal of Food Protection*, *72*, 937–944.
- Sawant, A.A., & Gajakos, A.V. (2008). Pulsed light method of food preservation. *International Journal of Agricultural Engineering*, *1*, 153–156.
- Setlow, P. (1992). I will survive: Protecting and repairing spore DNA. *Journal of Bacteriology*, *174*, 2737–2741.
- Schlimme, D.V. (1995). Marketing lightly processed fruits and vegetables. *Hortscience*, *30* (1), 15–17.
- Sharma, R.R., & Demirci, A. (2003). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on inoculated alfalfa seeds with pulsed ultraviolet light and response surface modelling. *Journal of Food Science*, *68*, 1448–1453.
- Takeshita, K., Yamanaka, H., Sameshima, T., Fukunaga, S., Isobe, S., Arihara, K., & Itoh, M. (2003). Damage of yeast cells induced by pulsed light irradiation. *International Journal of Food Microbiology*, *85*, 151–158.
- Uesugi, A.R., Woodling, S.E., & Moraru, C.I. (2007). Inactivation kinetics and factors of variability in the pulsed light treatment of *Listeria innocua* cells. *Journal of Food Protection*, *70*, 2518–2525.
- Wang, T., MacGregor, S.J., Anderson, J.G., & Woolsey, G.A. (2005). Pulsed ultra-violet inactivation spectrum of *Escherichia coli*. *Water Research*, *39*, 2921–2925.
- Wekhof, A. (2000). Disinfection with flash lamp. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, *54*, 264–276.
- Wekhof, A. (2001). Pulsed UV disintegration (PUVD): A new sterilisation mechanism for packaging and broad medical-hospital applications. In *The first international conference on ultraviolet technologies* (pp. 1–15). Washington, DC: Book of Abstracts.
- Woodling, S.E., & Moraru, C.I. (2005). Influence of surface topography on the effectiveness of pulsed light treatment for the inactivation of *Listeria innocua* on stainless-steel surfaces. *Journal of Food Science*, *70*, M345–M351.
- Woodling, S.E., & Moraru, C.I. (2007). Effect of spectral range in surface inactivation of *Listeria innocua* using broad-spectrum pulsed light. *Journal of Food Protection*, *70*, 909–916.
- Wuytack, E.Y., Phuong, L.T.D., Aertsen, A., Reyns, K.M., Marquenie, D., & De Ketelaere, B. (2003). Comparison of sub-lethal injury induced in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium by heat and by different nonthermal treatments. *Journal of Food Protection*, *66*, 1–37.