



UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI

**ESTUDI DE LA VIABILITAT D'ESTERILITZAR
UN PRODUCTE *BABY FOOD* LÍQUID MITJANÇANT
HOMOGENEÏTZACIÓ PER ULTRA-ALTES PRESSIONS**



TREBALL DE FINAL DE GRAU DE BIOTECNOLOGIA

Mireia Molné Rioné

Dirigit per Sílvia de Lamo Castellví (Dpt. d'Enginyeria química, URV)

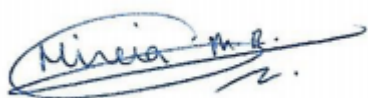
Universitat Rovira i Virgili

Facultat d'Enologia

Tarragona, setembre 2020

Jo, Mireia Molné Rioné , amb DNI 48139686L, soc coneixedora de la guia de prevenció del plagi a la URV *Prevenció, detecció i tractament del plagi en la docència: guia per a estudiants* (aprovada el juliol 2017) (<http://www.urv.cat/ca/vidacampus/serveis/crai/que-us-oferim/formacio-competencies-nuclears/plagi/>) i afirmo que en aquest TFG no constitueixen cap de les conductes considerades com a plagi per la URV.

Tarragona, 1 de setembre de 2020

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Mireia Molné Rioné', with a stylized flourish at the end.

Al meu pare i mare i al Josep per haver-me recolzat durant els mesos de realització del treball i per la confiança dipositada en mi,

A la meva parella Roger per haver-me fet costat en tots els moments difícils,

Als meus tiets Jesús i Rosa i les meves cosines Laia i Andrea per haver-me ofert un espai on progressar amb la realització del treball,

Als meus amics i amigues per creure en mi fins l'últim moment,

I per últim, a la meva tutora Sílvia per haver-me ajudat a establir el rumb del treball i haver-me inspirat a realitzar-lo,

ÍNDEX

RESUM I PARAULES CLAU	5
1. INTRODUCCIÓ	6
1.1. Productes <i>baby food</i>	6
1.1.1. Composició nutricional	7
1.1.2. Qualitat microbiològica	7
1.1.3. Presència de contaminants	8
1.2. Esterilització	9
1.3. Altes pressions	10
1.3.1. Esterilització tèrmica a altes pressions (ETAP)	13
1.3.2. Homogeneïtzació per ultra-altes pressions (HUAP).....	13
2. HIPÒTESIS DEL TREBALL I OBJECTIUS.....	16
3. METODOLOGIA.....	17
3.1. Revisió bibliogràfica	17
3.2. Procés d'esterilització per HUAP d'un producte <i>baby food</i> model	18
3.2.1. Introducció del model	18
3.2.2. Maquinària i vàlvula de disrupció.....	18
3.2.3. Control de qualitat	20
3.2.3.1. Anàlisi microbiològic.....	20
3.2.3.2. Propietats físico-químiques	20
3.2.3.3. Components bioactius.....	21
3.2.3.4. Capacitat antioxidant.....	21
3.2.3.5. Contaminants: furans	21
4. RESULTATS I DISCUSSIÓ.....	22
4.1. ETAP per a l'esterilització de productes <i>baby food</i>	22
4.2. HUAP per a l'esterilització d'aliments	23
4.2.1. Efecte de la temperatura i la pressió en la inactivació microbiana	23
4.2.2. Esterilització de diverses matrius alimentàries	24

4.2.3.	Afectació enzimàtica	26
4.3.	Efectes de l'aplicació d'HUAP en productes alimentaris de base vegetal	27
4.3.1.	Inactivació microbiana.....	27
4.3.2.	Implicació en la qualitat del producte	28
4.3.2.1.	Propietats físico-químiques	28
4.3.2.2.	Components bioactius.....	29
4.3.2.3.	Capacitat antioxidant.....	29
4.3.2.4.	Formació de contaminants: furans	29
4.4.	Esterilització del producte <i>baby food</i> líquid (<i>smoothie</i>) a base de vegetals mitjançant HUAP 30	
4.4.1.	Condicions d'operació	32
4.4.2.	Limitacions	32
5.	CONCLUSIÓ.....	33
6.	BIBLIOGRAFIA	34
7.	AUTOAVALUACIÓ.....	41

RESUM I PARAULES CLAU

Els productes *baby food* són productes destinats a lactants i infants de curta edat que estan en expansió mundialment i la seva innovació està centrada en millor la qualitat i nutrició d'aquests aliments. L'esterilització tèrmica *batch retorting* i continua en ultra altes temperatures és la utilitzada actualment en productes *baby food*, però pot provocar efectes negatius en la qualitat organolèptica i nutricional dels productes. És per això, que s'ha apostat per alternatives com l'esterilització amb l'ús d'altres pressions. Existeix l'esterilització tèrmica per altes pressions (ETAP) que presenta la limitació d'operar per *batch*. Però també l'homogeneïtzació per ultra-altes pressions (HUAP) que és una tecnologia prometedora per a l'esterilització d'aliments líquids en continu. Per tal d'estudiar la viabilitat d'esterilitzar un producte *baby food* líquid (*smoothie*) de base vegetal, s'ha realitzat una revisió bibliogràfica sobre l'ús i els efectes de la tecnologia HUAP i s'ha dissenyat el procés d'esterilització d'un producte *baby food smoothie* model per HUAP per estudiar el seu potencial en comparació als resultats obtinguts per altres autors en matrius alimentàries similars. Els resultats obtinguts en els estudis seleccionats van demostrar que la temperatura i la pressió tenen un efecte sinèrgic en la inactivació microbiana i que a unes condicions d'operació de 350 MPa i una temperatura del producte abans de pressuritzar (T_{in}) de 80°C les espores de *Bacillus amyloliquefaciens* presenten una inactivació acceptable per aconseguir l'esterilitat comercial. En el producte *baby food smoothie* s'utilitzarà aquestes condicions d'operació ja que aquesta espècie bacteriana funcionarà com a indicadora de l'esterilitat aconseguida. Pel que fa a la qualitat del producte, HUAP pot presentar resultats prometedors en la preservació de la qualitat organolèptica i nutricional. No obstant, cal estudiar l'escala real d'aquests resultats per determinar com afecta en aquesta matriu alimentària en qüestió i lidiar amb limitacions com l'envasat, l'escala industrial, l'acceptació de l'espècie bacteriana indicadora i la regulació europea del producte.

Paraules clau: productes *baby food*, esterilització, altes pressions, esterilització tèrmica a altes pressions, homogeneïtzació per ultra-altes pressions.

1. INTRODUCCIÓ

1.1. Productes *baby food*

Els aliments destinats a grups específics són aquells que per la seva naturalesa o procés de fabricació són apropiats per a satisfer l'objectiu nutricional especial pel qual estan destinats. Entre les categories que inclou aquest grup d'aliments trobem els aliments dirigits a lactants (menys de 12 mesos) i infants de curta edat (entre 1 i 3 anys). Aquests, al seu torn, es distingeixen en fórmules infantils i de seguiment, productes *baby food* processats a base de cereals i productes *baby food*. Els aliments categoritzats com a *baby food* són productes que formen part d'una dieta diversificada. És a dir, la funció d'aquests productes és complementar la dieta basada en llet materna i en llet de fórmula infantil i/o acompanyar l'adaptació progressiva als aliments convencionals dels lactants i infants de curta edat sans. Cal mencionar també que aquesta categoria alimentària exclou els aliments processats a base de cereals i les begudes a base de llet, així com productes similars (EFSA 2020).

Per raons merament nutricionals, la majoria de lactants necessiten aliments complementaris a la llet materna i la llet de fórmula infantil a partir dels 6 mesos d'edat. Es considera que, a partir d'aquest moment, els lactants poden començar a introduir aliments sòlids de forma gradual a la seva dieta (EFSA 2020). L'alimentació complementaria que es proporciona ha de ser adequada i segura per a poder cobrir les necessitats nutricionals en qüestió. Unes pràctiques alimentàries adequades pels lactants i els infants de curta edat són importants per a la prevenció de la desnutrició, el sobrepès, l'obesitat i les malalties no transmissibles relacionades amb la dieta (World Health Organization 2019).

A la Unió Europea (UE) els productes *baby food* estan regulats de forma general segons el Reglament (UE) n° 609/2013 del Parlament Europeu i del Consell, de 12 de juny de 2013, relatiu als aliments destinats als lactants i els infants de curta edat, els aliments per ús mèdic especial i els substituïts de la dieta completa per al control de pes. D'acord amb l'establert en aquest Reglament, la Comissió Europea ha d'adoptar un acte delegat que regula específicament la composició i la informació sobre aquests productes, pendent a dia d'avui (Aecosan 2020). Mentre que l'acte està en procés, aquest grup d'aliments està regulat de forma específica per la Directiva 2006/125/CE de la Comissió de 5 de desembre de 2006 en relació als aliments elaborats a base de cereals i aliments infantils per a lactants i infants de curta edat (D. 2006/125/CE), per la qual s'estableixen les regles generals de composició i etiquetatge d'aquests aliments.

D'altra banda, la creixent urbanització i el canvi d'estil de vida de la població han contribuït a l'augment de la demanda de productes *baby food* en els recents anys. Concretament a Europa, l'any 2019 aquest segment de l'alimentació va generar uns ingressos de 8.637,1

milions d'euros. Tanmateix s'espera que l'any 2021 el creixement dels ingressos d'aquest tipus de producte sigui d'un 4,7% (Statista 2020). Aquestes xifres deixen entreveure que els productes *baby food* són un mercat en expansió en potencia arreu del continent. Però no només arreu del continent, sinó que la demanda d'aquests productes va a l'alça mundialment. Les innovacions en aquest tipus de productes s'han centrat a millorar la seva qualitat i nutrició apostant per aliments mínimament processats (*fresh-like*) amb absència de conservants i amb la seva funcionalitat millorada (Rawson et al. 2011).

1.1.1. Composició nutricional

Els productes *baby food* són aliments que es produeixen sometent les substàncies seleccionades a un procediment d'homogeneïtzació per a fer-los digeribles. En la seva elaboració es poden incloure varietat d'aliments com fruites, verdures, carn, peix o diferents combinacions d'aquestes matrius alimentàries per a proporcionar les necessitats nutricionals del públic objectiu (Nobile et al. 2019). Aquests aliments es comercialitzen en format galeta, farinetes, puré, suc o altres begudes, begudes en pols, postres, sopa o iogurt, i s'envasen en llaunes, ampolles o *pouches* (envàs flexible). Respecte a la composició nutricional específica dels productes *baby food* a la UE, en la D. 2006/125/CE ve recollida la composició bàsica determinada mitjançant dades científiques generalment acceptades.

La composició i la biodisponibilitat de les proteïnes, dels minerals com el coure, calci, manganès, fòsfor, zinc i ferro, i de les vitamines incloent la riboflavina i la tiamina, són importants per a la salut dels lactants i infants de curta edat. Quant a l'estructura física dels productes *baby food*: la disposició espacial dels hidrats de carboni, els lípids i les proteïnes varia considerablement en funció del producte. Generalment, els productes *baby food* consisteixen en múltiples components, a més de les proteïnes, que poden interactuar químicament amb els components proteics. També, els sucres reductors tenen la capacitat de reaccionar amb les proteïnes mitjançant la reacció de Maillard, que es dona en el processament tèrmic dels aliments. Aquestes interaccions modifiquen la digestibilitat, la biodisponibilitat i la proteòlisi dels components proteics dels productes *baby food*. La baixa digestibilitat de les proteïnes alimentàries en el tracte digestiu infantil pot disminuir també la seva disponibilitat i tenir conseqüències adverses per a la salut infantil (Gan et al. 2018).

1.1.2. Qualitat microbiològica

Els lactants i infants de curta edat solen ser vulnerables a patir infeccions degut al seu sistema immunològic poc desenvolupat i a la manca d'una microbiota intestinal competent. Generalment, els productes *baby food* representen una rica font de nutrients i contenen ingredients de diversos orígens, per la qual cosa són considerats un medi excel·lent per afavorir el creixement microbià. Aquest fet comporta un risc potencial de exposició a patògens

oportunistes que entren a l'organisme a través dels aliments. Algunes de les espècies bacterianes patògenes que han sigut aïllades en aquest tipus d'aliments són *Cronobacter spp.* i *Bacillus spp.* com *B. subtilis* i *B. cereus* (Sadek et al. 2018). És per aquests motius que s'han d'establir uns criteris microbiològics reguladors que assegurin la innocuïtat dels productes. A la UE aquests nivells són establerts per la Regulació de la Comissió (EC) N° 2073/2005 relativa als criteris microbiològics dels aliments.

1.1.3. Presència de contaminants

La Directiva 99/39/CE de la Comissió Europea estableix les normes específiques sobre la presència de residus de pesticides en *baby food* i exigeix que aquest tipus d'aliments no en continguin nivells detectables. És a dir, no s'ha de superar el líndar de 0,01 mg residus de pesticides per kg de producte. A més, la D. 2006/125/CE, indica que els *baby foods* també han de complir amb altres disposicions específiques establertes per les mesures pertinents de la legislació de la UE sobre higiene, l'ús d'additius alimentaris, la presència de contaminants i l'ús de materials destinats a estar en contacte amb l'aliment (Nobile et al. 2019).

Tot i que el processament tèrmic dels productes *baby food* garanteix la seva seguretat microbiològica, poden formar-se components orgànics com els furans. Els furans són components orgànics heterocíclics que es formen en alguns aliments durant el seu tractament tèrmic, ja sigui durant la cocció o l'envasat. En un estudi realitzat per la *Food & Drug Administration* (FDA) sobre els nivells de furans en els *baby food*, es va revelar que aquests aliments comercialment disponibles als Estats Units contenen entre 3,9 i 100 parts per milió (ppb) de furans (U. S. Food & Drug 2007). Segons l'*European Food Safety Authority* (EFSA), els furans posseeixen carcinogenicitat atribuïble als efectes genotòxics. La ingesta diària admissible de furans és 2 µg per kg del pes corporal, i degut als efectes genotòxics que se li associen pot suposar una amenaça pels lactants i infants de curta edat (Robert Sevenich et al. 2014). Una altra amenaça és la presència d'amines biògenes (AB) aïllades en aquest tipus d'aliments. Les AB són compostos biològics actius formats mitjançant processos bioquímics naturals que tenen lloc a nivell cel·lular. La presència d'aquests compostos en productes *baby food* és conseqüència de l'activitat de descarboxilases endògenes i la presència de determinats aminoàcids que són el substrat de la producció d'AB. Per la qual cosa es va determinar que alguns ingredients dels productes *baby food* (espinacs, plàtan i pèsols verds) poden propiciar la presència d'AB i causar respostes al·lèrgiques (Czajkowska-Myslek and Leszczynska 2017).

1.2. Esterilització

L'esterilització és un dels mètodes més efectius de conservació alimentària i més àmpliament utilitzat en quasi totes les àrees de la indústria alimentària. Aquest consisteix en la inactivació de tota forma viable de microorganismes (incloent espores) patògens i alterants, virus, plasmidis, fragments d'ADN i enzims desfavorables que són presents en un aliment. El principal objectiu d'aquest procés és prolongar la vida útil del producte permetent així, l'obtenció d'aliments que poden emmagatzemar-se i distribuir-se a temperatura ambient. Es defineix com a vida útil d'un aliment el període després de la seva producció en el que es mantenen els nivells requerits de qualitat organolèptica, nutricional i de seguretat. Tot i que sovint es considera que hi ha una absència total dels contaminants esmentats anteriorment, és més acurat afirmar que l'aliment en qüestió està lliure d'organismes vius i/o altres molècules amb una certa probabilitat prèviament acceptada. Així doncs, el criteri que s'utilitza per avaluar l'esterilització comercial dels aliments és la inactivació del creixement dels microorganismes en comptes de la seva presència o absència. Concretament, la seva eficàcia s'avalua en funció de la reducció de les espores resistents de microorganismes potencialment patògens en els aliments (Ramesh 2003; Li and Farid 2016).

El pH del producte és un factor important per a determinar les condicions del procés d'esterilització. Per una banda, estan els productes àcids ($\text{pH} < 4,6$) que són processats a una temperatura d'aproximadament 100°C perquè degut al pH àcid el bacteri *Clostridium botulinum* no és capaç de créixer ni de produir toxines. No obstant, poden ser contaminats per microorganismes no formadors d'espores i s'han de distribuir i emmagatzemar sota refrigeració (Odlaug and Pflug 1978). Per altra banda estan els productes poc àcids ($\text{pH} > 4,6$) que requereixen una temperatura de processament entre $115\text{-}121^{\circ}\text{C}$ ja que poden ser contaminats per bacteris anaeròbics termòfils i mesòfils formadors d'espores altament resistents.

Les espores bacterianes són estructures cel·lulars procariotes de resistència produïdes pels bacteris per suportar i sobreviure en condicions mediambientals desfavorables. A causa de la seva elevada resistència, és necessari fer ús de procediments d'esterilització per inactivar-les. Un exemple són les espores de *C. botulinum* que són capaces de germinar en productes poc àcids durant l'emmagatzematge en condicions d'anaerobiosis. S'ha establert que s'han de tractar tèrmicament a l'equivalent d'almenys $121,1^{\circ}\text{C}$ durant 3 minuts per aconseguir 12D o la reducció de 12 cicles logarítmics en el nombre de bacteris esporulats ($n=12$). És la letalitat mínima acceptada universalment per un tractament tèrmic aplicat en aliments poc àcids. El nombre D és el temps que es triga en una determinada temperatura per destruir el 90% de les espores o cèl·lules vegetatives d'un determinat organisme. Que és igual al nombre de minuts per travessar un cicle logarítmic en la corba de supervivència. Per exemple, si el valor D a 72

°C és de 1 minut significa que per cada minut de tractament a 72 °C la població del microorganisme diana serà reduït un 90% (Ramesh 2003).

Els procediments d'esterilització poden implicar l'ús de calor, radiació o l'eliminació química o física de cèl·lules. Actualment, l'esterilització tèrmica és considerada el mètode convencional i predominant en la indústria alimentària. De tecnologies tèrmiques se'n poden distingir de dos tipus: processament discontinu (*batch*) *retorting* i processament continu a ultrates temperatures (UAT) amb envasat asèptic. En UAT el producte es sotmet a ultrates temperatures (150-200°C) durant 5-8 segons i s'envasa en condicions asèptiques tractant-se d'un procés en continu. Mentre que en el *retorting* el producte s'envasa en un envàs de resistència tèrmica i s'escalfa a ultrates temperatures (104-121°C) durant uns minuts, fent que es tracti d'una tecnologia de naturalesa *batch* perquè el procés es realitza per lots. Aquesta tecnologia té el desavantatge de comptar amb una velocitat d'escalfament i refrigeració lenta (Li and Farid 2016). Adversament, té un efecte negatiu en la qualitat dels aliments ja que es poden produir canvis en el valor nutricional, el color, el sabor i la textura entre d'altres del producte final (Mesías et al. 2016; Predrag et al. 2019; Wang et al. 2020). Com a alternativa, existeix l'esterilització no-convencional que combina el tractament tèrmic amb una o més de les tecnologies no-tèrmiques existents com: ultrates pressions, radiacions ultraviolades (UV), polsos elèctrics, ultrasons, camp magnètic oscil·latori, irradiacions i plasma en fred, que provoquen canvis mínims o inexistents en la qualitat final del producte (Li and Farid 2016).

1.3. Altres pressions

El processament d'ultrates pressions (PAP) és un mètode de naturalesa *batch* o semicontinua que implica l'ús de pressió en un rang entre 100 i 800 megapascals (MPa) durant un temps curt (5-10 min) amb o sense l'aplicació de calor. L'objectiu principal del PAP és la inactivació de bacteris vegetatius i de descomposició, llevats, floridures i virus per a garantir l'obtenció d'uns aliments microbiològicament segurs. Per observar les avantatges i limitacions que presenta el PAP front al processament tèrmic es fa referència a la Taula 1. En el PAP la pressió és aplicada i distribuïda de manera quasi-instantània per tot l'aliment. Aquest fet i d'altres que tenen lloc en el processament del producte, estan regits pels següents principis (Balasubramanian and Bala Balasubramaniam 2003; Bala Balasubramaniam, Martínez-Monteagudo, and Gupta 2015):

- Principi isostàtic: la pressió i els seus efectes són distribuïts de forma homogènia i instantània per l'aliment, independentment de la seva forma i mida. De manera que el temps de processament és independent al volum de la mostra.

- Principi de Le Châtelier: si la pressió varia, l'equilibri es desplaça cap a la direcció que tendeix a contrarestar parcialment el canvi inicial produït. És a dir, qualsevol procés associat a una disminució del volum, es veu reforçat per un increment de la pressió.
- Principi d'ordenació microscòpica: a temperatura constant, un augment de la pressió augmenta el grau d'ordenació de les molècules d'una determinada substància.
- Relació d'Arrhenius: diversos índex de la reacció durant l'aplicació de PAP estan influenciats pels efectes tèrmics. Aquests efectes poden ser sinèrgics, additius o antagònics.

Taula 1. Avantatges i limitacions de l'ús de la tecnologia PAP en front a l'ús de la tecnologia tèrmica (Bala Balasubramaniam, Martínez-Monteagudo, and Gupta 2015)

Descripció	Avantatges	Limitacions
Pressió hidrostàtica	Ràpida, distribució uniforme quasi-instantània a través de la mostra	Operació <i>batch</i> o semicontinua
Distribució tèrmica	Exposició tèrmica mínima o reduïda Augment de la temperatura de forma instantània i posterior refrigeració després de la despressurització	Pre-escalfament previ a l'esterilització tèrmica per altes pressions (ETAP) No uniformitat tèrmica durant ETAP
Compressió física	Apte per aliments amb alt contingut d'humitat	No apte per productes que continguin materials compressibles com algunes laminadures
Productes	Apte per aliments líquids i bombables	Rendiment limitat degut al <i>batch</i>
Temps de processament	Independent de la forma i mida del producte	-
Funcionalitat	Oportunitat per formulació de productes nous. Productes diferents a partir dels efectes de la pressió. Ex: desnaturalització de proteïnes	-
Velocitat de reacció	Dins algunes condicions limitants pressió-temperatura, la pressió accelera la inactivació microbiana	Eficàcia en inactivació d'enzims variable Solament amb la pressió no es pot inactivar espores bacterianes
Acceptació per part del consumidor	Acceptació del consumidor de processos físics	Els costos elevats i les operacions <i>batch</i> són limitacions pel processament de productes

La pressió és una variable termodinàmica bàsica i durant l'aplicació de PAP els efectes de la temperatura es relacionen al seu torn amb els efectes de la pressió. Per transmetre de manera

uniforme la pressió desitjada als aliments prèviament envasats, es fa servir un fluid transmissor de pressió (FTP). Generalment, l'aigua és el FTP més utilitzat en equips a escala industrial per processar els aliments mitjançant aquesta tecnologia. S'utilitza l'aigua perquè la compressió física resulta en un increment de temperatura de 2-3°C per 100 MPa. Mentre que amb l'ús de solvents orgànics l'increment de temperatura és major que en l'aigua, degut a una major compressibilitat, menor conducció tèrmica i menor capacitat calorífica. L'habilitat del FTP de protegir la superfície dels vasos interns de la corrosió durant el processament i la viscositat del fluid sota pressió són alguns dels factors involucrats en la selecció del fluid (Balasubramanian and Bala Balasubramaniam 2003; Bala Balasubramaniam, Martínez-Monteagudo, and Gupta 2015).

La pressió hidrostàtica altera les distàncies interatòmiques, afectant aquelles interaccions en les quals l'energia de l'enllaç depèn d'aquesta distància com els enllaços febles: forces de Van der Waals, interaccions electrostàtiques i ponts d'hidrogen. Els canvis produïts en aquests, expliquen l'efecte de preservació que presenta el tractament PAP. Els enllaços covalents es veuen inalterats i es preserva l'activitat biològica de components funcionals com l'àcid ascòrbic, els folats, les vitamines i les antiocianines, així com també les propietats sensorials i els nutrients. Aquest fet, va en concordança amb l'afirmació de que la tecnologia PAP pot proporcionar productes amb una qualitat superior als obtinguts per la tecnologia tèrmica convencional (Mújica-Paz et al. 2011).

Actualment a nivell mundial, l'aplicació més utilitzada del PAP per la indústria alimentària és la de pasteurització i es comercialitzen productes pasteuritzats amb aquesta tecnologia. L'efecte de la pasteurització mitjançant PAP en aquests és modificar les membranes cel·lulars i interrompre les funcions cel·lulars responsables per la reproducció i la supervivència. Es provoquen canvis en les propietats físiques de la membrana lipídica, la desnaturalització de les proteïnes i les modificacions del pH intern. Cal mencionar que la resistència al tractament amb pressió varia considerablement entre els diferents microorganismes (Robert Sevenich et al. 2014) (Bala Balasubramaniam, Martínez-Monteagudo, and Gupta 2015). Per altra banda, el processament PAP també causa efectes en els enzims, la inactivació parcial que es dona en aquests i la seva sensibilitat a la pressió depèn en gran mesura del seu origen i la seva condició microambiental. La sensibilitat variable de diferents enzims es reflecteix en la seva cinètica (Chakraborty et al. 2014).

No obstant, les espores bacterianes són molt resistents al processament PAP ja que a temperatura ambient poden sobreviure a una pressió major als 1000 MPa. Per inactivar les espores bacterianes és necessària la combinació d'una elevada pressió i una temperatura moderada aconseguida amb l'esterilització tèrmica a altes pressions (ETAP) (Balasubramanian and Bala Balasubramaniam 2003). A més, l'aplicació d'altres pressions

(100-800 MPa) pot utilitzar-se per a una àmplia varietat d'aplicacions de processament i conservació d'aliments com són la congelació i descongelació, l'escaldat, la pasteurització i l'esterilització comercial. En funció de la intensitat de l'aplicació temperatura-pressió es pot veure influenciada l'eficàcia de la inactivació microbiològica d'un tractament i s'han diferenciat diferents tipus de tractament amb l'aplicació d'elevades pressions. Entre ells trobem l'esterilització tèrmica òhmica amb pressió, congelació i descongelació a altes pressions, fase densa de CO₂, l'ETAP i l'homogeneïtzació a altes pressions (HAP) (Bala Balasubramaniam, Martínez-Monteagudo, and Gupta 2015). Durant la realització d'aquest treball es farà menció als dos últims.

1.3.1. Esterilització tèrmica a altes pressions (ETAP)

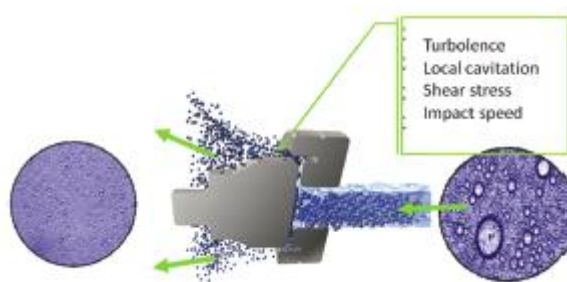
L'ETAP és una tecnologia d'operació *batch* que combina l'efecte sinèrgic establert entre temperatura (90-121°C), pressió (600 MPa) i temps d'operació per realitzar una inactivació ràpida i eficaç de les espores bacterianes. Un avantatge addicional és l'increment de temperatura que es genera en la mostra i el FTP, a causa de l'escalfament de compressió. Depenent del sistema alimentari en qüestió, la temperatura pot incrementar-se entre 3 i 9°C per 100 MPa i contribueix a escalfar el producte fins a les temperatures requerides; mentre que la càrrega tèrmica aplicada en el producte pot reduir-se. El tractament per ETAP requereix que hi hagi un pre-escalfament del producte a una temperatura entre 70 i 90°C, per després, amb l'escalfament de compressió la temperatura del procés pugui arribar a una temperatura entre 90 i 130°C. A més, la no uniformitat tèrmica durant el procés a escala industrial pot variar uns 10°C aproximadament i és un factor que cal tenir en compte per garantir la seguretat del procés (Robert Sevenich et al. 2014; Robert Sevenich and Mathys 2018). La no uniformitat tèrmica es deu a l'envàs, les propietats moleculars (pH, composició i activitat de l'aigua) i les propietats termo-físiques i estructurals com són el volum, la forma, la densitat, la porositat, la compressibilitat, l'especificitat tèrmica i el coeficient d'expansió tèrmica de l'aliment en qüestió (Barbosa-Cánovas and Juliano 2008). Degut a l'aplicació d'una component tèrmica menor a l'esterilització convencional, es preserven l'estructura i la qualitat dels aliments. S'han obtingut resultats prometedors mitjançant ETAP tant en sistemes model com en productes *baby food*. Tot i que es tracta d'una tecnologia prometedora per a produir aliments poc àcids d'alta qualitat i emmagatzemats de forma segura a temperatura ambient, encara manca la seva implementació en la indústria alimentària (Robert Sevenich et al. 2014; Robert Sevenich and Mathys 2018).

1.3.2. Homogeneïtzació per ultra-altes pressions (HUAP)

L'HAP és una tecnologia d'operació continua d'aliments líquids capaç de produir propietats funcionals interessants en els aliments. Aquest processament té aplicacions potencials en la

indústria química, farmacèutica i alimentària. A més, l'emulsió, la dispersió i la mescla es troben entre els propòsits principals per al seu ús. Aquesta tecnologia, permet la utilització de pressions entre 10 i 15 vegades superiors als homogeneïtzadors convencionals. És a dir, cobreix l'interval de pressió de 100 a 400 MPa, dins del qual s'ha anomenat homogeneïtzació per ultra-altes pressions (HUAP) a l'interval de pressió comprès entre 300 i 400 MPa (Erika Georget et al. 2014). Per a la realització d'aquest treball, s'anomenarà HAP quan la tecnologia impliqui una pressió inferior a 300 MPa i HUAP quan el valor sigui igual o superior. Ambdues tecnologies actuen sota els mateixos principis.

L'homogeneïtzació fa referència al procés físic en el qual se subdivideixen grans partícules polidisperses en un nombre relativament gran de partícules d'un rang de mida més menut. Un homogeneïtzador d'alta pressió és un aparell que hidrostàticament

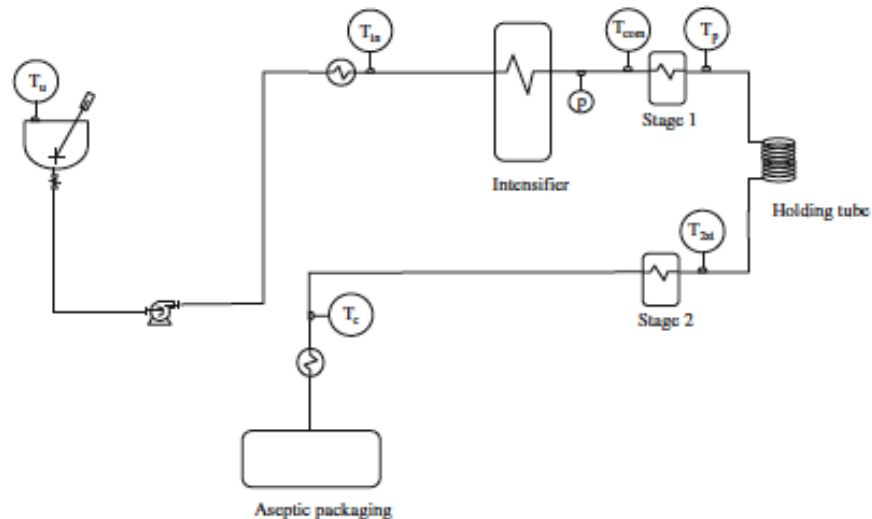


Il·lustració 1. Mecanismes d'acció més probables en HAP (Patrignani and Lanciotti 2016).

consistir en una bomba d'altres pressions i una vàlvula de disrupció. Els aliments pressuritzats flueixen a través del orifici diminut (10-30 μm) existent entre la vàlvula de disrupció i el suport de la vàlvula de l'homogeneïtzador. Això fa que s'interrompi la velocitat del fluid dissipant l'energia cinètica generada mitjançant les accions de cavitació, cisalla i turbulència que es creen (veure Il·lustració 1) (Bala Balasubramaniam, Martínez-Monteagudo, and Gupta 2015; Martínez-Monteagudo, Yan, and Bala Balasubramaniam 2017). La pressió aplicada durant el procés d'HAP pot controlar-se ajustant la distància existent entre la vàlvula de disrupció i el seu suport. A més dels paràmetres del procés, la pressió aplicada i la temperatura assolida en la matriu alimentària són les variables que poden afectar els components alimentaris i les cèl·lules microbianes (Patrignani and Lanciotti 2016).

La Il·lustració 2 mostra un diagrama de flux esquemàtic de la tecnologia HAP i d'un sistema d'envasat asèptic. El sistema consisteix en un tanc d'alimentació, intercanviadors de calor, intensificadors de pressió, vàlvules de disrupció en la primera i segona etapa de l'homogeneïtzació, tub de contenció, sistema de refrigeració i sistema d'envasat asèptic. Durant el processament HAP, el fluid en qüestió pot ser escalfat a una certa temperatura inicial mitjançant un intercanviador de calor depenent de si l'objectiu és pasteuritzar o esterilitzar. Posteriorment, el fluid es pressuritza a la pressió desitjada i es despressuritza a través d'un conjunt de vàlvules de disrupció. El fluid passa a través del tub de contenció per obtenir prou temps de residència per assegurar la seguretat microbiològica del producte. La segona vàlvula

d'homogeneïtzació s'utilitza per disgregar qualsevol partícula que no ho hagi fet abans i per portar el fluid a pressió atmosfèrica. Per últim el fluid processat es refreda i s'envasa asèpticament (Martínez-Monteagudo, Yan, and Bala Balasubramaniam 2017).



II·lustració 2. Diagrama esquemàtic del processament HAP i el seu sistema d'envasat. T_u temperatura del producte sense tractar, T_{in} temperatura d'entrada del producte abans de la pressurització, p pressió, T_{com} augment de la temperatura a causa de la compressió hidrostàtica, T_p temperatura del producte després de l'aplicació del primer flux de pressió per homogeneïtzació, T_{2nd} temperatura del producte després de la segona fase d'homogeneïtzació, T_c temperatura del producte després de refredar-se de l'intercanviador de calor (Martínez-Monteagudo, Yan, and Bala Balasubramaniam 2017).

La inactivació de microorganismes vegetatius mitjançant l'ús de HAP ha sigut demostrada en diverses ocasions (Bevilacqua et al. 2007; Bevilacqua et al. 2009; Patrignani et al. 2010). No obstant, l'efectivitat d'aquesta tecnologia en la inactivació microbiana pot veure's afectada per alguns factors del procés i de la fisiologia dels microorganismes, així com també per les característiques del fluid tractat. Per altra banda, la tecnologia HUAP ha mostrat potencial per aconseguir una esterilització comercial. La combinació d'un increment de la T_{in} amb un rang de pressions major, com el que ofereix la tecnologia HUAP, han demostrat ser una alternativa prometedora per la inactivació d'espores bacterianes. Aquests fets han obert un ventall de possibilitats i és possible formular la hipòtesi de que mitjançant la manipulació de la T_{in} la pressió diana i el disseny de la vàlvula poden homogeneïtzar-se i preservar-se (pasteurització o esterilització comercial) aliments líquids mitjançant HAP o HUAP en un sol pas (Patrignani and Lanclotti 2016; Martínez-Monteagudo, Yan, and Bala Balasubramaniam 2017).

2. HIPÒTESIS DEL TREBALL I OBJECTIUS

Actualment, la indústria alimentària no ha implementat un mètode d'esterilització no-convencional en continu per a l'esterilització de productes *baby food* líquids. Donat que l'esterilització tèrmica pot produir efectes negatius en la qualitat tant nutricional com organolèptica del producte i l'esterilització tèrmica per altes pressions (ETAP) es tracta d'una tecnologia d'operació per *batch*, l'homogeneïtzació per ultra-altes pressions (HUAP) pot suposar una alternativa viable per a l'esterilització comercial en continu de productes *baby food* líquids.

Per tant, l'objectiu general del treball és estudiar la viabilitat d'esterilitzar un producte *baby food* líquid (*smoothie*) model a base de vegetals amb l'ús de la tecnologia HUAP mitjançant la determinació dels efectes en un producte *baby food* model proposat per tractar amb aquesta tecnologia. Per a dur-ho a terme, s'estableixen els següents objectius específics:

- Revisar les oportunitats i les limitacions de la implementació industrial de la tecnologia ETAP per a l'esterilització de productes *baby food*.
- Realitzar una revisió bibliogràfica de l'ús i els efectes d'HUAP per a l'esterilització de diverses matrius alimentàries.
- Revisar la inactivació microbiana i els paràmetres de qualitat en productes alimentaris de base vegetal resultants de l'aplicació d'HUAP.
- Determinar els efectes esperats del tractament del producte *baby food* líquid (*smoothie*) a base de vegetals model per HUAP.
- Estudiar les condicions d'operació, les oportunitats i les limitacions del procés per esterilitzar un producte *baby food* líquid (*smoothie*) a base de vegetals per HUAP.

3. METODOLOGIA

3.1. Revisió bibliogràfica

El procés de recerca i elaboració del treball de fi de grau s'ha dut a terme durant el període de temps comprès entre maig i agost del 2020.

La informació relacionada amb la regulació dels productes *baby food* a la UE s'ha trobat a la pàgina web de la *European Food Safety Authority* (EFSA 2020) i amb el complement de la pàgina web del Dret a la UE (<https://eur-lex.europa.eu/>) que conté les directives pertinents.

Per trobar la informació utilitzada sobre l'ETAP, l'HUAP i els productes *baby food* s'ha realitzat una revisió bibliogràfica amb l'ajuda de les principals fonts i bases de dades biotecnològiques. La més utilitzada ha sigut la base de dades NCBI (*National center for Biotechnology Information*), utilitzant la literatura de PubMed. També s'ha fet ús de la plataforma *Web of Science*, amb la qual es van ordenar els articles obtinguts segons el nombre de citacions. En ambdues plataformes es van acotar les cerques als últims 10 anys de publicació. D'aquestes cerques, s'han acceptat els articles i les revisions més rellevants dels últims anys (des de 2010 fins a l'actualitat) ja que el coneixement científic tendeix a renovar-se en períodes de temps curts.

En els dos primers apartats dels resultats s'ha caracteritzat tant la tecnologia ETAP (utilitzada en productes *baby food*), com la tecnologia HUAP. De la tecnologia HUAP s'ha revisat la seva implicació en l'esterilització alimentària, així com els seus efectes. La cerca ha anat centrada en les següents temàtiques:

- Funcionament de la tecnologia ETAP i la seva implicació en productes *baby food*.
- Esterilització de matrius alimentàries mitjançant HUAP.
- Inactivació microbiana i efectes enzimàtics i nutricionals derivats de l'HUAP.

Pel que fa al tercer apartat la cerca realitzada sobre l'HUAP s'ha acotat als productes alimentaris de base vegetal, ja que la base d'aquest treball és estudiar la viabilitat d'aquesta tecnologia per esterilitzar un producte *baby food* líquid (*smoothie*) de base vegetal. En aquest cas, la cerca ha anat centrada en:

- Inactivació microbiana en productes de base vegetal tractats per HUAP.
- Implicació en els paràmetres de qualitat (paràmetres físico-químics, capacitat antioxidativa, components bioactius i formació de furans) dels productes de base vegetal tractats per HUAP.

La cerca s'ha realitzat en anglès ja que és l'idioma principal en la publicació d'articles científics. Les paraules clau utilitzades per a la cerca han sigut:

- Esterilització tèrmica a altes pressions: “high-pressure thermal sterilization”, “food sterilization by high-pressure thermal sterilization”, “high-pressure thermal sterilization baby food”.
- Homogeneïtzació per ultra altes pressions: “ultra-high pressure homogenization”, “high pressure homogenization”, “food sterilization by ultra-high pressure homogenization”.
- Productes *baby food*: “baby food”, “baby food sterilization”, “food for toddlers and children”.

Amb l'ajuda del programa informàtic Mendeley, s'han recollit tots els articles i documents consultats i citats durant el procés d'elaboració del treball.

3.2. Procés d'esterilització per HUAP d'un producte *baby food* model

Per a estudiar la viabilitat d'aplicar la tecnologia HUAP per esterilitzar productes *baby food* s'ha dissenyat el procés d'esterilització requerit per a produir un producte *baby food* líquid (*smoothie*) a base de vegetals per estudiar el potencial d'aquest producte *baby food* model.

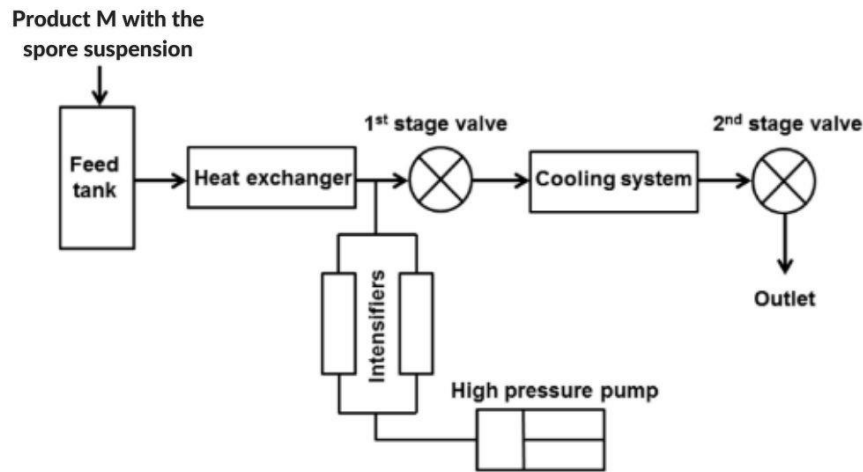
3.2.1. Introducció del model

El producte *baby food* líquid (*smoothie*) a base de vegetals ha servit com a model durant la realització del treball i se'n fa referència com a producte M. Els ingredients del producte es trobaran dins dels requisits relatius als nutrients que conté la D. 2006/125/CE. Es proposa que sigui un *smoothie* format a partir de mango i poma i que sigui un producte poc àcid ($\text{pH} > 4,6$). A més, s'han de tenir en compte paràmetres importants del producte com la seva viscositat i la mida de les partícules dels sòlids en suspensió. Per tal d'analitzar l'esterilitat aconseguida en el producte M, s'inocularà les mostres d'aquest amb els microorganismes *Bacillus amyloliquefaciens* i *Geobacillus stearothermophilus* en una concentració de 10^5 espores/mL. S'ha escollit aquesta concentració perquè donat que la majoria d'estudis realitzats sobre l'esterilització amb HUAP utilitzen aquest valor inicial i servirà de referència.

3.2.2. Maquinària i vàlvula de disrupció

Els homogeneïtzadors de dues etapes són els d'un ús més freqüent per al tractament HUAP i estan equipats amb dues vàlvules de disrupció: una vàlvula d'alta pressió (primera etapa) i una altre de baixa pressió (segona etapa), en les quals les transformacions produïdes depenen de les característiques geomètriques de l'agulla, el suport, l'alçada i la forma de

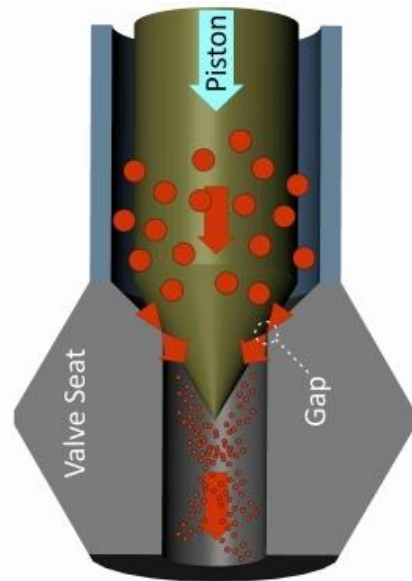
l'espai de la vàlvula, a més de les característiques físico-químiques del fluid (Martínez-Monteagudo, Yan, and Bala Balasubramaniam 2017).



Il·lustració 3. Esquema del procés dut a terme a l'homogeneïtzador durant el procés HUAP. Imatge modificada de Dong et al. 2015.

L'esterilització del producte M mitjançant HUAP es durà a terme fent ús d'un homogeneïtzador de dues etapes a escala pilot amb disseny "piston-gap", en concret el model FPG11300 de Stansted Fluid Power Ltd. L'esquema del procés pot observar-se a la Il·lustració 3 i les característiques de l'homogeneïtzador estan disponibles a la pàgina web de Stansted Fluid Power Ltd (SFP) (Stansted Fluid Power 2020). S'ha escollit aquest homogeneïtzador perquè permet unes condicions d'operació de fins a 410 MPa i un cabal de fins a 330 L/h.

La vàlvula de disrupció és el coll d'ampolla del rendiment del procés HUAP, i el seu disseny i geometria són de gran importància per a l'equipament d'homogeneïtzació per altes pressions. Aquestes vàlvules són dissenyades de tal manera que el flux passa a través d'un orifici entre la vàlvula i el seu suport, on s'accelera la seva velocitat. Estan comercialment disponibles en diversos tipus i geometries depenent de la seva aplicació. En aquest cas s'utilitzarà la vàlvula de SFP (il·lustració 4). Aquesta vàlvula està fabricada amb un material ceràmic capaç de suportar pressions de fins a 400 MPa. El flux s'alimenta axialment a través de la part mòbil de la



Il·lustració 4. Vista esquemàtica de la vàlvula de SFP d'homogeneïtzació per altes pressions (Stansted Fluid Power 2020).

vàlvula i després s'accelera radialment per l'espai entre el capçal de la vàlvula i el seu suport. A més, es produeixen canvis intensos d'energia quan el líquid passa d'alta pressió i baixa velocitat entre l'espai del pistó i la vàlvula, a baixa pressió i alta velocitat quan passa per l'espai entre el capçal de la vàlvula i el seu suport i flueix a través del suport cap a la sortida de l'homogeneïtzador (Valencia Flores 2015).

3.2.3. Control de qualitat

3.2.3.1. Anàlisi microbiològic

Per avaluar l'esterilitat aconseguida en el producte M mitjançant l'aplicació d'HUAP, s'avaluarà la presència d'espores de *B. amyloliquefaciens* i *G. stearothermophilus*. La incubació de les espores de *B. amyloliquefaciens* es realitzarà mitjançant la metodologia utilitzada per Dong et al. 2015 i la de *G. stearothermophilus* de Amador Espejo et al. 2014.

El nombre d'espores supervivents s'avalua comptant en placa el nombre d'unitats formadores de colònies després d'una sèrie de dilucions de les mostres tractades. En els tractaments on s'hagi assumit l'esterilitat a partir dels recomptes microbians per sota del límit de detecció, la mostra s'incubarà durant una setmana a la temperatura d'incubació específica de cada microorganisme. Després es tornaran a enumerar les espores mitjançant el mètode de recompte de plaques, per tal de descomptar un fals tractament estèril.

La inactivació de les espores es calcularà fent ús de l'Equació 1:

$$Inactivació = \frac{\log(N)}{\log(N_0)} \text{ (Equació 1)}$$

On N és el nombre d'espores després del tractament amb UHPH i N_0 és el nombre d'espores inicial de la mostra.

3.2.3.2. Propietats físico-químiques

Com el producte M és un *smoothie*, els paràmetres a analitzar seran °Brix, acidesa, pH, viscositat i l'índex de maduració.

- Els °Brix determinen els sòlids en suspensió (1 g glucosa/100 g producte M) i es mesuraran amb un refractòmetre.
- L'acidesa es determinarà a partir d'una valoració amb sosa càustica i fenolftaleïna.
- El pH es determinarà amb un pH-metre.
- La viscositat es determinarà amb un viscosímetre.
- L'índex de maduració s'obtindrà a partir del quocient entre els °Brix i l'acidesa obtinguda en els assajos anteriors.

Els límits que donaran validesa a la comercialització del producte i asseguraran la seva qualitat, igual que en el control microbiològic, vénen determinats per l'ISO que s'estigui acreditant.

3.2.3.3. Components bioactius

Pel que fa a les vitamines contingudes en el producte M, s'avaluaran els nivells d'àcid ascòrbic o vitamina C i de vitamina A mitjançant cromatografia líquida d'alta eficàcia o *high performance liquid chromatography* (HPLC). En el cas de la vitamina C s'utilitzarà el mètode descrit en Yu et al. 2014 i en el de la vitamina A s'utilitzarà el descrit en Velázquez-Estrada et al. 2013.

D'altra banda, també s'avaluarà el contingut de carotenoides i polifenols. Els carotenoides es determinaran mitjançant el mateix mètode que el descrit per a la vitamina A. Mentre que els polifenols es determinaran amb el mètode de Folin-Ciocalteu amb un espectrofotòmetre a 750 nm i utilitzant àcid gàl·lic com a estàndard (Velázquez-Estrada et al. 2013).

3.2.3.4. Capacitat antioxidant

La capacitat antioxidant de les mostres del producte M s'avaluarà mitjançant la capacitat d'absorció dels radicals d'oxigen (ORAC). L'assaig ORAC mesura un senyal fluorescent procedent d'una sonda que s'emmarca en presència d'espècies reactives d'oxigen (ROS). La presència d'un antioxidant absorbeix el ROS generat, permetent que el senyal fluorescent continuï. En aquest cas es farà ús del test ORAC-FL utilitzant Trolox® (un anàleg hidrosoluble de la vitamina E) com a estàndard per comparar tots els altres compostos antioxidants (Yu et al. 2014).

3.2.3.5. Contaminants: furans

La identificació de furans es realitzarà mitjançant cromatografia de gasos-espectrometria de masses o *gas chromatography mass spectrometry* (SPME) ja que es tracta d'un component volàtil. Els detalls de la metodologia a seguir poden trobar-se descrits en Fábio Henrique Poliseli-scopel 2012.

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

4.1. ETAP per a l'esterilització de productes *baby food*

Per tal d'avaluar els efectes de la tecnologia ETAP en els aliments, Robert Sevenich et al. 2013 van inocular espores de *G. stearothermophilus* i *B. amyloliquefaciens* en diverses matrius alimentàries obtenint com a resultat que *G. stearothermophilus* és més sensible a la pressió que *B. amyloliquefaciens*. També van observar que el temps de processament i les condicions del tractament depenen de la matriu alimentària i a la seva vegada, influeixen en la formació de furans en el producte. Com a conclusió, van establir que el procés més adequat per a esterilitzar el sistema alimentari estudiat és a les condicions de 600 MPa, 121,1°C i 7 minuts de processament per garantir la seguretat del producte i reduir la quantitat de furans en comparació al processament *retorting*.

Els productes *baby food* requereixen d'una qualitat alimentària i una seguretat microbiològica elevades per a poder ser comercialitzats. Robert Sevenich et al. 2014 van analitzar la qualitat alimentària i la seguretat microbiològica en puré *baby food* inoculant espores de les dues mateixes soques que en l'estudi anterior. Els resultats van ser que la formació de furans pot reduir-se entre un 81% i un 96% en comparació amb un processament *retorting* d'un valor F_0 de 7 minuts. En aquest cas la inactivació de *B. amyloliquefaciens* va ser de 4 a 5 $\log_{10}$ CFU/g a 600 MPa (90-115°C, 0,2-20 min). Seguidament, R. Sevenich et al. 2015 van portar el puré *baby food* a escala pilot amb unes combinacions temperatura-temps a 600 MPa d'entre 100 i 115°C entre 0,45-28 minuts on van aconseguir una inactivació de *B. amyloliquefaciens* de 5 $\log_{10}$ CFU/g. La reducció de furans que se'n va associar va ser entre un 94% i 98% en comparació amb el processament *retorting*. D'altra banda, Al-Ghamdi et al. 2020 van obtenir en matrius alimentàries vegetals poc àcides una reducció de 9.6 i 9.4 $\log_{10}$ CFU/g de *B. amyloliquefaciens* i la no detecció de microorganismes aeròbics i anaeròbics mitjançant l'aplicació del processament ETAP en unes condicions de 600 MPa, 115°C durant 5 minuts.

Es sap que la resistència a la calor de les espores bacterianes no es correlaciona amb la seva resistència a la pressió. Per exemple, les espores de *B. amyloliquefaciens* mostren una resistència major que les espores de *C. botulinum* a la combinació de temperatura i pressió. El grau de resistència de les espores al tractament combinat de pressió/temperatura no està determinat i com a conseqüència és difícil suggerir un organisme objectiu general per al processament ETAP d'aliments poc àcids (Margosch et al. 2006). És essencial l'obtenció d'una espècie bacteriana indicadora que demostrï una inactivació acceptable de les espores dels bacteris patògens i de descomposició per a considerar que el producte ha sigut esterilitzat. Els resultats que van obtenir R. Sevenich et al. 2015 suggereixen que el

microorganisme *B. amyloliquefaciens* podria tractar-se d'una bon candidat com a espècie bacteriana indicadora.

Tot i que els resultats obtinguts del processament ETAP en productes *baby food* són prometedors, encara falta la implementació industrial d'aquesta tecnologia. Aquest fet es causat per la limitació de coneixement sobre els mecanismes d'inactivació de les espores bacterianes altament resistents i de limitacions tècniques com l'homogeneïtzació i complexitat del procés i el processament *batch* (Robert Sevenich et al. 2014; Robert Sevenich and Mathys 2018). El fet de que es tracti d'una tecnologia de naturalesa *batch* i les limitacions exposades anteriorment fan que es proposi una alternativa com l'HUAP per a l'esterilització de productes *baby food*.

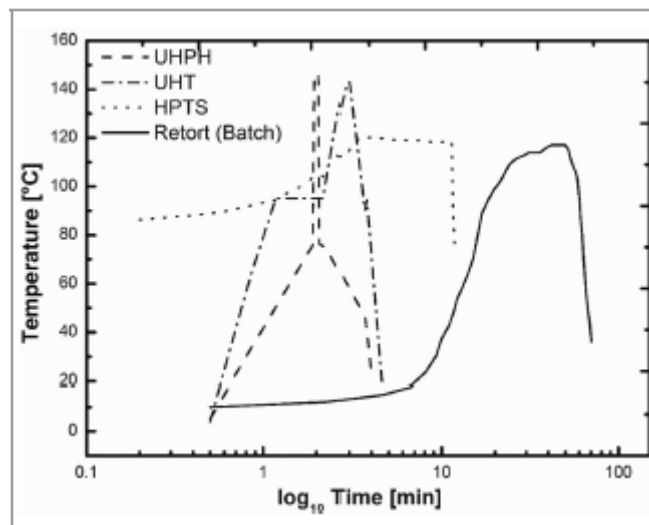
4.2. HUAP per a l'esterilització d'aliments

4.2.1. Efecte de la temperatura i la pressió en la inactivació microbiana

L'eficiència de la inactivació microbiana s'incrementa amb l'augment del nivell de pressió, les múltiples passades i la temperatura de processament del fluid aplicat al sistema alimentari. La temperatura inicial del fluid T_u i la temperatura abans de pressuritzar T_{in} depenen de les condicions de temperatura i pressió requerides pel procés. Per altra banda, la temperatura del fluid posterior a la vàlvula de disrupció T_p depèn del nivell de pressió, les característiques del fluid i la intensitat de la calor absorbida (veure Il·lustració 2). La calor sorgeix dels efectes de cisallament associats al disseny i l'eficiència de la vàlvula de disrupció (Dumay et al. 2013).

L'increment de la T_{in} s'ha demostrat que beneficia la inactivació microbiana resultant de l'aplicació d'HUAP, ja que té un efecte sinèrgic amb la pressió aplicada que millora l'efectivitat del procés (Amador Espejo et al. 2014). En primer lloc, la T_{in} augmenta durant la pressurització de 2 a 3°C per 100 MPa a causa de la calor de compressió generada per l'acció de l'intensificador de pressió. Seguidament, el fluid passa a través de la vàlvula de disrupció on incrementa la seva velocitat a causa de la reducció de les seves partícules i al descens de pressió que experimenta. Com a resultat, la temperatura del producte s'incrementa de 14 a 18°C per 100 MPa a causa dels efectes de cisallament i la conversió parcial d'energia mecànica en calor (Dumay et al. 2013). Això resulta en una T_p que ha augmentat de 16 a 21°C per 100 MPa. En la Il·lustració 5 pot observar-se la càrrega tèrmica que s'esdevé del procés d'HUAP (*Ultra High Pressure Homogenization, UHPH*) en comparació amb les altres tecnologies d'esterilització, sent el pic màxim el que correspon a la T_p . El temps que el sistema

es manté en aquest pic màxim sol ser menor a 1 segon, fet que comporta una càrrega tèrmica menor que en els altres casos (Gustavo, Espejo, and Hern 2014).



Il·lustració 5. Comparació dels perfils de temperatura-temps de les estratègies d'esterilització: batch retorting, batch ETAP, continu UAT i continu HUAP (Robert Sevenich and Mathys 2018)

L'increment de pressió que es dona en la pressurització del producte genera (I) forces mecàniques i estrès longitudinal en el flux laminar a l'entrada i l'orifici de la vàlvula de disrupció, i (II) turbulència, cavitació i impactes amb la superfície sòlida a la sortida de l'orifici. El mecanisme exacte pel qual l'HUAP inactiva els microorganismes no es coneix. El més probable és que aquests vegin la seva funcionalitat interrompuda per l'elevada pressió, els gradients de velocitat, els efectes de cisallament, la turbulència, la torsió i els fenòmens de cavitació que tenen lloc a través de la vàlvula de disrupció. Aquests efectes podrien causar la disrupció mecànica de les cèl·lules i/o l'alteració de les membranes cel·lulars (Briñez et al. 2006; Dumay et al. 2013).

4.2.2. Esterilització de diverses matrius alimentàries

L'HUAP es beneficia dels últims progressos de la tecnologia d'altres pressions. En són exemples els intensificadors d'altres pressions i els materials resistents a altres pressions (inoxidables, acer, ceràmica i segellament) que s'utilitzen per a la fabricació de la maquinària. També les vàlvules d'homogeneïtzació sofisticades amb suports i pistons, construïdes amb ceràmica o cobertes amb diamant artificial i capaces de suportar pressions de fins a 350-400 MPa que han estat especialment desenvolupades per l'equipament HUAP (Dumay et al. 2013). La progressió cap aquesta tecnologia ha brindat noves oportunitats envers l'esterilització comercial d'aliments.

Taula 2. Visió general dels resultats no satisfactoris/satisfactoris de la utilització d'HUAP per a la inactivació d'espores bacterianes. ND fa referència a no detecció.

Matriu alimentària	Soca espores	espora/mL	log ₁₀ (N/N ₀)	MPa	°C	T _{in}	°C	Màx T _p	Referències
Llet desnatada	<i>Bacillus stearothermophilus</i> ATCC 7953 i <i>Clostridium sporogenes</i> PA 3679	Recompte inicial	Màxima reducció	Pressió					
		1,00E+05	0,67 (16 passades - 300 Mpa)	300		45		84	(Pinho, Franchi, and Tribst 2011)
Llet de soia	Espores presents naturalment (<i>B. cereus</i> i mesofíliques)	2,88E+03 - 3,55E+03 (<i>B. cereus</i>)	ND després de 20 d/30°C	300		75		135	(Fábio H Polisel-scopel et al. 2012)
Beguda d'ametlla	Espores presents naturalment (<i>B. cereus</i> i mesofíliques)	1,00E+04 - 1,00E+03 (<i>B. cereus</i>)	ND després de 20 d/30°C	300		65-75		127,7 ± 9,7 - 129,3 ± 12,6	(Valencia-flores et al. 2013)
Buffer PBS (0,01 M)	<i>G. stearothermophilus</i> ATCC7953 i <i>B. subtilis</i> PS832	1,00E+06 (<i>B. subtilis</i>) - 1,00E+04 (<i>G. stearothermophilus</i>)	5 (<i>B. subtilis</i>) - 2 (<i>G. stearothermophilus</i>)	300-350		80		145	(Georget et al. 2014)
Llet (3,5% greix)	Espores presents naturalment	1,00E+01	ND després de 15 d/30°C i 7 d/45°C	300		75-85		139 ± 2,7	(Juan, Bárcenas, and Trujillo 2014)
Llet sencera UHT	<i>B. cereus</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>B. sporothermodurans</i> , <i>B. coagulans</i> , <i>G. stearothermophilus</i> i <i>B. subtilis</i>	1,00E+06	>5	300		85		139 ± 1,3	(Gustavo, Espejo, and Hern 2014)
Llet de soia	Espores presents naturalment (<i>B. cereus</i> i mesofíliques)	1,51E+02 - 1,95E+02 (<i>B. cereus</i>)	ND després de 20 d/30°C i 10 d/55°C	300		80		144	(Fábio Henrique Polisel-scopel et al. 2014)
Suc de taronja	<i>A. acidoterrestris</i> CECT 7094 i <i>A. hesperidium</i> CECT 5324	1,00E+05 - 1,00E+06	5 (<i>A. acidoterrestris</i> 80°C) i (<i>A. hesperidium</i> 70°C)	300		70-80		130	(Roig-Sagués et al. 2015)
Buffer PBS i llet	<i>B. amyloliquefaciens</i>	1,00E+06	3,5	350		80		150	(Dong et al. 2015)

En els últims 10 anys, diversos estudis s'han realitzat per determinar la capacitat d'esterilització comercial dels equips d'HUAP. La Taula 2 mostra una síntesi dels resultats obtinguts sobre l'esterilització alimentària durant aquest període de temps mitjançant l'ús d'HUAP. En primer lloc, s'ha de fer menció a l'estudi de Pinho, Franchi, and Tribst 2011 que amb una T_p màxima de 84°C i una pressió de 300 MPa no van aconseguir reduir el nombre d'espores viables de *B. stearothermophilus* ATCC 7953 i *C. sporogenes* PA 3679 en llet desnatada. Van realitzar un tractament d'homogeneïtzació de múltiples passades (16 en total) on tampoc van aconseguir els resultats desitjats. En segon lloc, es pot observar que en la resta de casos, on les condicions d'operació ha sigut una pressió igual o superior a 300 MPa i una T_{in} entre 65 i 80°C permeten una reducció de la quantitat d'espores suficient com per a considerar que s'ha aconseguit l'esterilitat comercial de l'aliment. No obstant, cal fer menció de que en el processament HUAP tampoc hi ha una espècie bacteriana indicadora de l'esterilitat. Tot i que els resultats mostren heterogeneïtat pel que fa a la màxima reducció d'espores i la T_{in} aplicada, els autors conclouen que s'ha aconseguit esterilitzar la matriu alimentària en qüestió. La T_p aconseguida durant el procés d'HUAP oscil·la entre els 127 i 150°C perquè depèn de la matriu alimentària de cada cas (Fábio H Poliseli-scopel et al. 2012; Valencia-flores et al. 2013; E Georget et al. 2014; Juan, Bárcenas, and Trujillo 2014; Fábio Henrique Poliseli-scopel et al. 2014 Roig-Sagués et al. 2015; Dong et al. 2015).

L'absència d'esterilització obtinguda en el cas de Pinho, Franchi, and Tribst 2011 pot estar vinculada a una T_p massa baixa per a aconseguir una inactivació d'espores suficient com per a esterilitzar el producte. Per tant, es pot concloure que per assegurar l'efectivitat de l'HUAP en l'esterilització alimentària és necessària la combinació d'una pressió igual o superior a 300 MPa i unes temperatures T_{in} (65-80°C) i T_p elevades (127-150°C) aplicades en un interval de temps relativament curt (menys d'1 segon).

4.2.3. Afectació enzimàtica

Els efectes en els enzims a causa de l'aplicació d'HUAP són una combinació de diversos fenòmens físics, incloent les forces de cisallament, la turbulència, la cavitació i els gradients de pressió i velocitat. En general, aquests esdeveniments resulten en l'activació, inactivació o en absència de canvis en l'activitat, l'estabilitat i funcionalitat enzimàtica (Martínez-Monteagudo, Yan, and Bala Balasubramaniam 2017). Per a la realització d'aquest treball és interessant avaluar la inactivació enzimàtica esdevinguda de l'aplicació d'HUAP. S'ha demostrat que mitjançant HUAP es pot disminuir l'activitat de la pectina metilesterasa (PME). La inestabilitat en la terbolesa del suc, es produeix per la desesterificació de la pectina a causa de la PME. Les partícules més grans i gruixudes solen dipositar-se per gravetat, però el tractament HUAP fragmenta aquestes partícules en un diàmetre menor a 2 µm. Les pectines

són les principals responsables d'aconseguir estabilitat en la terbolesa del producte tractat per HUAP (Velázquez-Estrada et al. 2013; Juan, Bárcenas, and Trujillo 2014). Navarro et al. 2014 van avaluar l'activitat de PME en suc de taronja i mandarina aplicant una pressió de 150 MPa i demostrant que l'efecte de la pressió afavoreix la inactivació de l'enzim. Com a resultat, l'activitat residual de PME va ser menor al 10% del valor inicial en els dos suc. No obstant, es van donar diferències en la sensibilitat de PME al tractament en les dues fruites, per la qual cosa el potencial d'inactivació varia en funció de la matriu alimentària. D'altra banda, Velázquez-Estrada et al. (2012) van aconseguir un 96% d'inactivació de PME aplicant una pressió de 300 MPa, igualant l'efecte aconseguit amb un tractament de pasteurització.

4.3. Efectes de l'aplicació d'HUAP en productes alimentaris de base vegetal

4.3.1. Inactivació microbiana

Pel que fa a la susceptibilitat dels microorganismes patògens dels suc al processament HUAP: els llevats són més sensibles que els bacteris, pel que poden ser inactivats més fàcilment que aquests. Quant als bacteris, els bacteris Gram positiu són més resistents que els Gram negatiu a causa de la gruixuda capa de peptidoglicà que posseeixen (Bevilacqua et al. 2009).

No obstant, les espores bacterianes són les estructures cel·lulars que presenten una resistència major a la combinació temperatura-pressió. Dels resultats obtinguts en la Taula 2, es pot observar que només en un cas s'avalua l'utilització d'HUAP en suc. En suc de taronja Roig-Sagués et al. (2015) van aconseguir una reducció màxima d'espores de 5 log₁₀ dels microorganismes *A. acidoterrestris* CECT 7094 i *A. hesperidium* CECT 5324. Les condicions d'operació utilitzades van ser una pressió de 300 MPa i una T_{in} entre 70-80°C. Com pot observar-se, aquestes condicions s'assimilen a les utilitzades en les altres matrius alimentàries aconseguint resultats satisfactoris en l'esterilització. Per tant, s'assumeix que la resistència de les espores al tractament HUAP depèn en poca mesura de la matriu alimentària.

D'altra banda, Amador Espejo et al. (2014) van determinar que existeixen diferències pel que fa a la resistència entre les diferents espècies bacterianes sota les mateixes condicions de processament HUAP. Un exemple són les espores de *B. subtilis* i *G. stearothermophilus* que van ser les espècies bacterianes que van presentar una resistència major a 300 MPa i una T_{in} de 85°C (Gustavo, Espejo, and Hern 2014). S'ha demostrat que *G. stearothermophilus* és més sensible a la pressió que *B. Amyloliquefaciens* (Robert Sevenich et al. 2013) i aquesta última va presentar major resistència al processament ETAP que *G. stearothermophilus* (Margosch

et al. 2006; Robert Sevenich et al. 2013). Aquest fet fa que *B. amyloliquefaciens* sigui un bacteri d'interès per a la validació del procés d'esterilització. Per tal de comprovar l'efectivitat de la tecnologia HUAP en la seva inactivació, Dong et al. (2015) van determinar que és possible aconseguir inactivar les espores de *B. amyloliquefaciens* mitjançant aquest procediment. Van obtenir un valor màxim de reducció de 3,5 log₁₀ i per tant l'esterilització del producte. Igual que en ETAP, el microorganisme *B. amyloliquefaciens* podria funcionar com a espècie bacteriana indicadora de l'esterilització comercial d'HUAP en suc.

4.3.2. Implicació en la qualitat del producte

La informació sobre els efectes en els paràmetres de qualitat de la tecnologia HUAP en productes vegetals és escassa. És per aquest motiu, que en ocasions, durant la realització d'aquest apartat es fa referència a la tecnologia HAP, que implica una pressió inferior a 300 MPa. A banda, en alguna ocasió s'estudien els efectes en begudes vegetals com la de soja o d'ametlla.

4.3.2.1. Propietats físico-químiques

L'alteració de les propietats físico-químiques del producte és important per a que el producte no perdi qualitat nutricional. Es va avaluar la influència d'HUAP en les característiques físiques del suc de taronja (estabilitat de la terbolesa i distribució de la mida de les partícules) i el paràmetres de qualitat general (color, pH, °Brix i acidesa entre d'altres) i els valors obtinguts van trobar-se gairebé inalterats respecte al producte fresc. Com a conseqüència del tractament HUAP la distribució de la mida de les partícules va tornar-se monomodal, a més de disminuir-se la seva mida. També es va obtenir un color amb més lluminositat del producte final que el del producte fresc o tractat tèrmicament (Velázquez-Estrada 2011). Suárez-jacobo et al. 2011 van realitzar l'avaluació dels paràmetres de qualitat general mencionats anteriorment en suc de poma i el resultat va ser que no es van detectar diferències després de l'aplicació del tractament HUAP a 300 MPa. Amb aquestes conclusions van determinar que l'HUAP no afecta l'acidesa del suc i la seva composició general, i que per tant presenta l'avantatge de preservar les característiques del suc.

Els suc de fruita estan formats per una fase insoluble (la polpa) dispersa en una solució viscosa (el sèrum). La polpa està formada per teixits cel·lulars de la fruita i els seus fragments, parets cel·lulars i clústers de polímers insolubles. El sèrum és una solució aquosa de polisacàrids, sucres, sal i àcids solubles. La viscositat de la dispersió està afectada per la viscositat de la fase continua (el sèrum), la viscositat intrínseca de les partícules i el volum relatiu ocupat per les partícules. Com a conseqüència del processament HAP, va haver una reducció de la viscositat del suc de tomàquet, traduïda en una reducció de la viscositat del sèrum (Augusto, Ibarz, and Cristianini 2012).

4.3.2.2. Components bioactius

L'aplicació de pressió dinàmica durant el processament HUAP pot incrementar l'extracció dels components nutricionals. No obstant, incrementar l'extracció no és sinònim d'una millor qualitat nutricional (Martínez-Monteagudo, Yan, and Bala Balasubramaniam 2017). Respecte a l'estabilitat nutricional dels suc, les vitamines juguen un paper important. En suc de poma es van registrar valors de vitamina C 8 vegades més alts que en el suc tractat tèrmicament. Pel que fa a la vitamina A va haver una reducció del 33% en el seu contingut respecte al 40% obtingut en el suc tractat tèrmicament (Suárez-jacobo et al. 2011). D'altra banda, Velázquez-Estrada et al. 2013 van avaluar l'impacte del processament HAP en la concentració de vitamina C, polifenols i carotenoides en el suc de taronja. La concentració de vitamina C i els polifenols va ser major que l'obtinguda pel suc tractat tèrmicament. Altrament, el contingut total de carotenoides no va rebre canvis significatius i es va determinar que es pot afavorir la isomerització geomètrica d'aquests darrers mitjançant l'ús d'aquest processament.

4.3.2.3. Capacitat antioxidant

La capacitat antioxidant s'ha relacionat amb els compostos químics que tenen l'habilitat de protegir un sistema biològic contra l'efecte potencialment perjudicial dels processos o reaccions que impliquen espècies reactives d'oxigen i nitrogen. Un exemple són els components polifenòlics que poden afectar la capacitat antioxidant dels aliments. El processament HUAP pot incrementar l'extracció dels components antioxidants a causa de la descomposició de les parets cel·lulars de les cèl·lules vegetals. A més, pot haver-hi una parcial inactivació dels enzims polifenoloxidasa i peroxidasa que estan involucrats en la degradació dels components fenòlics de les matrius vegetals (Patrignani et al. 2019). Patrignani et al. 2019 van estudiar la funcionalitat del suc de kiwi amb l'aplicació d'HUAP i van obtenir un augment significant de la disponibilitat total de polifenols després del tractament. Així com durant l'emmagatzematge van obtenir una reducció més lenta de la quantitat de polifenols, pel que es tradueix en una major retenció d'aquests compostos bioactius i en una major capacitat antioxidant del producte. Suárez-jacobo et al. 2011 van determinar que a una pressió de 300 MPa la capacitat antioxidant i els components fenòlics es veien preservats en suc de poma. Aquests fets es tradueixen en una preservació de la capacitat antioxidant dels suc, esterilitzats mitjançant la tecnologia HUAP.

4.3.2.4. Formació de contaminants: furans

Com no s'han realitzat estudis sobre els nivells de furans en suc, s'avalua la formació d'aquests contaminants en llet de soja esterilitzada per HUAP. La quantitat de furans que es va obtenir del tractament UHT de la llet de soja va resultar ser més elevada que la d'un

tractament HUAP de 300 MPa amb una T_{in} de 80°C. No obstant, el tractament HUAP en aquestes condicions va resultar en un perfil del nivell de components volàtils similar al obtingut en UHT. L'elevada temperatura i l'elevat temps de retenció poden influenciar en la trajectòria del perfil de components volàtils d'un aliment. Com a resultat dels canvis en el perfil organolèptic de la llet de soja tractada per UHT, aquesta va resultar en una menor acceptació sensorial (Fábio Henrique Poliseli-scopel 2012). Per tenir més evidències sobre la formació d'aquests components orgànics en sucs fent ús de la tecnologia HUAP s'han de realitzar més estudis.

4.4. Esterilització del producte *baby food* líquid (*smoothie*) a base de vegetals mitjançant HUAP

Després d'analitzar el potencial d'esterilització de la tecnologia HUAP en diverses matrius alimentàries, cal estudiar la viabilitat de fer-ne ús en el producte M proposat.

En primer lloc, cal caracteritzar la matriu alimentària que serà sotmesa al procediment HUAP. Al ser un producte destinat a lactants i infants de curta edat de la UE cal assegurar-se que el disseny de la matriu alimentària compleix els requeriments imposats per la D. 2006/125/CE. A la seva vegada, al tractar-se d'un procés que redueix la mida de les partícules d'un aliment líquid, caldrà comptar amb una matriu alimentària que no tingui un elevat contingut de sòlids en suspensió, com un *smoothie* en aquest cas. El producte M es tracta d'un producte poc àcid, i com es sap, és un producte potencial a ser contaminat per microorganismes formadors d'espores. Per aquest motiu, caldrà esterilitzar el producte per tal d'allargar la seva vida útil i poder-lo conservar a temperatura ambient durant un temps prolongat. Estimar la vida útil del producte després del tractament d'esterilització dependrà de l'estabilitat microbiològica i sensorial d'aquest, i com a conseqüència es recomanarà realitzar estudis de vida útil després del tractament.

Al llarg dels anys, per esterilitzar els productes *baby food* s'ha utilitzat l'esterilització tèrmica, ja sigui *retorting* o UAT i s'ha comprovat que aquest processament té efectes negatius en la qualitat nutricional i organolèptica del producte. Així que com a alternativa, es va estudiar la implementació de l'ETAP per esterilitzar aquest tipus de productes. Els resultats obtinguts van ser satisfactoris en quant a la qualitat aconseguida del producte *baby food*. No obstant, aquesta tecnologia encara presenta limitacions per a la seva implementació a nivell industrial i presenta una naturalesa *batch*. Per esterilitzar el producte M es farà servir la tecnologia HUAP, que s'ha demostrat que pot suposar un mètode alternatiu i innovador per a l'esterilització continua d'aliments, suposant una millora nutricional i de la qualitat del producte resultant.

Del control de qualitat que es durà a terme en el producte M després del tractament d'HUAP s'espera obtenir els resultats descrits a continuació. Quant a la inactivació microbiana, s'ha determinat que la resistència de les espores al tractament HUAP depèn en poca mesura de la matriu alimentària. Com les espores bacterianes que van mostrar més resistència al tractament HUAP segons els autors van ser les de *B. amyloliquefaciens*, es proposarà aquest bacteri com a espècie bacteriana indicadora de l'esterilitat comercial aconseguida en el producte M. En l'anàlisi microbiològic del producte s'avaluarà també la inactivació de les espores de *G. stearothermophilus* perquè es tracta de la "segona" espècie bacteriana més resistent i s'utilitzarà a mode de comprovació en el producte M. Pel que fa a l'afectació enzimàtica, s'espera que disminueixi l'activitat de la PME i com a conseqüència minvi la hidròlisi de la pectina contribuint en una major estabilitat en la terbolesa del producte.

En les propietats físico-químiques del producte M s'espera que els paràmetres generals de qualitat es mantinguin gairebé inalterats i l'obtenció d'una major lluminositat pel que fa al color del producte final. També que hi hagi una disminució de les partícules del producte i que aquestes adoptin una distribució monomodal. En quant a la viscositat obtinguda, s'haurà d'estudiar les propietats reològiques resultants del tractament HUAP per a poder determinar el seu comportament. Dels components bioactius s'espera obtenir una major biodisponibilitat dels nutrients, afavorida també a causa de la brevetat de l'impacte tèrmic que disminuirà la reacció de Maillard esdevinguda. S'espera un augment en el contingut de vitamina C i de polifenols i una disminució o la no variació en el contingut de vitamina A i carotenoides. Sempre en comparació amb el producte tractat tèrmicament. Tot i que els resultats dels autors mostren aquesta tendència, serà necessari comprovar els resultats perquè poden donar-se variacions en funció de la matriu alimentària en qüestió. En línia amb l'augment en el contingut total de polifenols, s'espera que la capacitat antioxidant del producte M es preservi, així com el que es va obtenir amb el suc de kiwi i de taronja.

Per últim, i no de menys importància, cal mencionar la formació de contaminants com els furans. Com s'ha comentat, els furans són un tema de preocupació en el tractament tèrmic dels aliments, i en concret en els productes *baby food*. Pel que es pot determinar dels resultats obtinguts, hi ha una reducció en el contingut de furans de la llet de soja tractada per HUAP respecte a la tractada per UAT. No obstant, els nivells van resultar similars i no hi ha suficient congruència per afirmar que hi ha hagut una reducció en la formació de furans en el tractament HUAP respecte al UAT. Per la qual cosa, s'hauran d'analitzar els nivells de furans produïts en el producte M per concloure si aquesta tecnologia és efectiva per a la reducció d'aquests contaminants.

4.4.1. Condicions d'operació

Les condicions d'operació proposades per a esterilitzar el producte M són una pressió de 350 MPa i una T_{in} de 80°C ja que van ser les condicions utilitzades per a la inactivació d'espores de *B. amyloliquefaciens* (veure Taula 2). Com s'ha mencionat anteriorment, aquesta espècie bacteriana s'utilitzarà per a determinar l'esterilitat comercial del producte. La T_p màxima dependrà de la matriu alimentària del producte M, però pot oscil·lar entre 130-150°C.

4.4.2. Limitacions

En primer lloc, cal fer menció a l'envasament del producte, després del tractament HUAP serà necessari envasar-lo de forma asèptica. És per això que caldrà incorporar en el final del procés d'HUAP un envasament asèptic per assegurar l'esterilització del producte. En segon lloc, aquest procediment està limitat a aliments líquids i/o bombables i per tant no es poden processar aliments sòlids i/o no-bombables. Pel que fa a la inactivació microbiana, encara falta el disseny d'un procés estandarditzat per a la inactivació necessària d'espores i com a conseqüència, la definició i acceptació d'una espècie bacteriana indicadora. Per últim, cal mencionar que hi ha poca informació sobre l'afectació en la qualitat dels sucres, i en general dels aliments, resultants de l'esterilització per HUAP i com a conseqüència és necessària una major investigació per a poder cobrir una major varietat de matrius alimentàries.

En quant a l'escala industrial del procés, la recuperació d'energia en el procés HUAP s'ha d'optimitzar per a poder equiparar-se als sistemes UHT en termes d'eficiència i sostenibilitat ambiental (Robert Sevenich and Mathys 2018).

Pel que fa a les regions de la UE: existeix la regulació de nous aliments o *Novel food* (CE núm. 258/97). Cada aliment tractat amb HUAP ha de ser presentat i provat per determinar que compleix les demandes de la UE en termes de "substàncies equivalents" d'un aliment o ingredient alimentari existent que ja es comercialitzi dins de la UE (Robert Sevenich and Mathys 2018). A banda d'aquestes especificacions, el producte M també haurà de complir les demandes de la UE en referència als productes *baby food* i la seva qualitat microbiològica.

5. CONCLUSIÓ

L'estudi de la viabilitat d'esterilitzar un producte *baby food* fent ús de la tecnologia HUAP ha demostrat que aquesta tecnologia pot suposar una alternativa per a l'esterilització comercial en continu d'aquest tipus de producte.

En els resultats obtinguts sobre la tecnologia ETAP es pot definir que tot i que es va millorar la qualitat dels productes *baby food* respecte als productes tractats tèrmicament, aquesta tecnologia presenta els desavantatges de comptar amb una naturalesa *batch*, la manca d'una soca indicadora i limitacions tècniques sobre la complexitat del procés.

Després d'estudiar l'efecte de la temperatura i la pressió en la inactivació microbiana, l'esterilització i l'afectació enzimàtica obtinguda fent ús del processament HUAP continu: es demostra que l'efecte de la temperatura i la pressió és sinèrgic per a millorar l'efectivitat del procés. Per aconseguir una reducció considerable de la inactivació d'espores és necessària l'aplicació d'una pressió igual o superior a 300 MPa i una T_{in} entre 65 i 80°C per aconseguir l'esterilitat comercial. Tot i així, es considera que en aquesta tecnologia també manca l'existència d'una espècie bacteriana que indiqui que s'ha aconseguit l'esterilització desitjada. Pel que fa a l'afectació enzimàtica, pot haver activació o inactivació enzimàtica derivada de l'aplicació d'HUAP i pot inactivar-se PME que és un procés desitjable en suc de fruites i verdures.

Els resultats dels efectes de l'aplicació d'HUAP en productes alimentaris de base vegetal es van integrar en els resultats esperats en el producte *baby food* líquid (*smoothie*) a base de vegetals model. La conclusió extreta és que les espores de l'espècie bacteriana *B. amyloliquefaciens* són les més resistents al tractament HUAP i com a conseqüència, pot funcionar com a espècie bacteriana indicadora. Per esterilitzar el producte s'hauran d'aplicar unes condicions d'operació de 350 MPa i una T_{in} de 80°C que permetran una reducció eficaç de les espores bacterianes d'aquesta espècie. Pel que fa als paràmetres físico-químics del producte s'espera que resultin gairebé inalterats, dels components bioactius s'espera que augmenti la seva disponibilitat però que l'afectació en els seus nivells variï en funció de la matriu alimentària en qüestió. La capacitat antioxidant pot veure's preservada i la formació de furans està per determinar. Tot i que aquesta tecnologia és prometedora pel producte *baby food* proposat, per a poder determinar el seu potencial real cal realitzar un estudi a escala real. A més, lidiar amb limitacions com l'envasament asèptic, validar l'espècie bacteriana indicadora, optimitzar l'escala industrial del procés i complir les demandes imposades per la UE sobre aquest tipus de producte.

6. BIBLIOGRAFIA

- Aecosan. 2020. "Food for Infants and Young Children." *agencia española de seguridad alimentaria y nutrición*.
http://www.aecosan.msssi.gob.es/en/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subdetalle/alimentos_lactantes.htm (June 3, 2020).
- Al-Ghamdi, Saleh et al. 2020. "High Pressure-Assisted Thermal Sterilization of Low-Acid Fruit and Vegetable Purees: Microbial Safety, Nutrient, Quality, and Packaging Evaluation." *Food Control* 114(March): 107233. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107233>.
- Amador Espejo, Genaro Gustavo, M. M. Hernández-Herrero, B Juan, and A. J. Trujillo. 2014. "Inactivation of Bacillus Spores Inoculated in Milk by Ultra High Pressure Homogenization." *Food Microbiology* 44: 204–10.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002014001476?via%3Dihub>.
- Augusto, Pedro E D, Albert Ibarz, and Marcelo Cristianini. 2012. "Effect of High Pressure Homogenization (HPH) on the Rheological Properties of Tomato Juice : Time-Dependent and Steady-State Shear." *Journal of Food Engineering* 111(4): 570–79.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.03.015>.
- Bala Balasubramaniam, V. M., Sergio I Martínez-Monteagudo, and Rockendra Gupta. 2015. "Principles and Application of High Pressure-Based Technologies in the Food Industry." *Annual Review of Food Science and Technology* 6: 435–62.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25747234/>.
- Balasubramanian, S., and V. M. Bala Balasubramaniam. 2003. "Compression Heating Influence of Pressure Transmitting Fluids on Bacteria Inactivation during High Pressure Processing." *Food Research International* 36: 661–68.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996903000140>.
- Barbosa-Cánovas, G. V., and P. Juliano. 2008. Food Engineering: Integrated Approaches *Food Sterilization by Combining High Pressure and Thermal Energy*.
https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-0-387-75430-7_2#citeas.
- Bevilacqua, A., F. Cibelli, M.R. Corbo, and M. Sinigaglia. 2007. "Effects of High-Pressure Homogenization on the Survival of Alicyclobacillus Acidoterrestris in a Laboratory Medium." *Letters in Applied Microbiology* 45: 382–86.
https://www.researchgate.net/publication/227765470_Effects_of_high-pressure_homogenization_on_the_survival_of_Alicyclobacillus_acidoterrestris_in_a_laboratory_medium.

- Bevilacqua, A., C Costa, M. R. Corbo, and M. Sinigaglia. 2009. "Effects of the High Pressure of Homogenization on Some Spoiling Micro-Organisms, Representative of Fruit Juice Microflora, Inoculated in Saline Solution." *Letters in Applied Microbiology* 48: 261–67. <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1472-765X.2008.02527.x>.
- Briñez, Wilfredo José, Artur X. Roig-Sagués, M. Manuela Hernández Herrero, and Buenaventura Guamis López. 2006. "Inactivation of *Listeria Innocua* in Milk and Orange Juice by Ultrahigh-Pressure Homogenization." *Journal of Food Protection* 69(1): 86–87. https://www.researchgate.net/publication/7355358_Inactivation_of_Listeria_innocua_in_Milk_and_Orange_Juice_by_Ultrahigh-Pressure_Homogenization.
- Chakraborty, Snehasis, Neelima Kaushik, P. Srinivasa Rao, and H. N. Mishra. 2014. "High-Pressure Inactivation of Enzymes: A Review on Its Recent Applications on Fruit Purees and Juices." *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13: 578. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1541-4337.12071>.
- Czajkowska-Myslek, Anna, and Joanna Leszczynska. 2017. "Risk Assessment Related to Biogenic Amines Occurrence in Ready-to-Eat Baby Foods." *Food and Chemical Toxicology* 105: 82–92. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691517301643?via%3Dihub>.
- Dong, Peng et al. 2015. "Ultra High Pressure Homogenization (UHPH) Inactivation of *Bacillus Amyloliquefaciens* Spores in Phosphate Buffered Saline (PBS) and Milk." *Frontiers in Microbiology* 6: 2–4. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26236296/>.
- Dumay, Eliane et al. 2013. "Technological Aspects and Potential Applications of (Ultra) High-Pressure Homogenisation." *Trends in Food Science and Technology* 31(1): 13–26. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224412000556?via%3Dihub>.
- EFSA. 2020. "Alimentos Para Lactantes y Otros Grupos." <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/foods-infants-and-other-groups?accordionSection=2#group-faq> (June 3, 2020).
- Gan, Junai, Gail M. Bornhorst, Bethany M. Henrick, and J. Bruce German. 2018. "Protein Digestion of Baby Foods: Study Approaches and Implications for Infant Health." *Molecular Nutrition & Food Research* 62(1): 1–10. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28891110/>.
- Georget, E et al. 2014. "Bacterial Spore Inactivation by Ultra-High Pressure Homogenization." *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 26: 116–23. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1466856414001349?via%3Dihub>.

- Georget, Erika et al. 2014. "(Ultra) High Pressure Homogenization for Continuous High Pressure Sterilization of Pumpable Foods – a Review." *Frontiers in nutrition* 15: 1–3. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25988118/>.
- Gustavo, Genaro, Amador Espejo, and M M Hern. 2014. "Inactivation of Bacillus Spores Inoculated in Milk by Ultra High Pressure Homogenization." 44: 204–10.
- Juan, B, M E Bárcenas, and A J Trujillo. 2014. "Effect of Moderate Inlet Temperatures in Ultra-High-Pressure Homogenization Treatments on Physicochemical and Sensory Characteristics of Milk." *Journal of Dairy Science* 97(2): 659–71. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7245>.
- Li, Xiang, and Mohammed Farid. 2016. "A Review on Recent Development in Non-Conventional Food Sterilization Technologies." *Journal of Food Engineering* 182: 33–34. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877416300589?via%3Dihub>
- Margosch, Dirk et al. 2006. "High-Pressure-Mediated Survival of Clostridium Butulinum and Bacillus Amyloliquefaciens Endospores at High Temperature." *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 72(5): 3476–81. <https://aem.asm.org/content/72/5/3476>.
- Martínez-Monteagudo, Sergio, Bing Yan, and V. M. Bala Balasubramaniam. 2017. "Engineering Process Characterization of High-Pressure Homogenization—from Laboratory to Industrial Scale." *Food Engineering Reviews* 9: 145–46, 162. <https://link.springer.com/article/10.1007/s12393-016-9151-5>.
- Mesías, Marta, Magali Wagner, Stéphane George, and Francisco J Morales. 2016. "Impact of Conventional Sterilization and Ohmic Heating on the Amino Acid Profile in Vegetable Baby Food." *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 34: 24. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S146685641600014X?via%3Dihub>
- Mújica-Paz, Hugo et al. 2011. "High-Pressure Processing Technologies for the Pasteurization and Sterilization of Foods." *Food Bioprocess Technol* 4: 971–72. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11947-011-0543-5>.
- Navarro, José L., Luís Izquierdo, José V. Carbonell, and Enrique Sentandreu. 2014. "Effect of PH, Temperature and Maturity on Pectinmethylesterase Inactivation of Citrus Juices Treated by High-Pressure Homogenization." *LWT - Food Science and Technology* 57(2): 785–88. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.01.033>.

- Nobile, Maria et al. 2019. "Presence of Emerging Contaminants in Baby Food." *Food Additives & Contaminants* 37: 1–2. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19440049.2019.1682686>.
- Odlaug, Theron E., and Irving J. Pflug. 1978. "Clostridium Botulinum and Acid Foods." *Journal of Food Protection* 41: 568–69. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30795102/>.
- Patrignani, Francesca et al. 2010. "Potentialities of High-Pressure Homogenization to Inactivate *Zygosaccharomyces Bailii* in Fruit Juices." *Journal of Food Science* 75: 116–19. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1750-3841.2009.01508.x>.
- . 2019. "(Ultra) High Pressure Homogenization Potential on the Shelf-Life and Functionality of Kiwifruit Juice." 10(February): 1–11. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00246/full>.
- Patrignani, Francesca, and Rosalba Lanclotti. 2016. "Applications of High and Ultra High Pressure Homogenization for Food Safety." *Frontiers in Microbiology* 7: 1–4, 10–11. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.01132/full>.
- Pinho, Cláudia R G, Mark A Franchi, and Aline A L Tribst. 2011. "Effect of High Pressure Homogenization Process on *Bacillus Stearothermophilus* and *Clostridium Sporogenes* Spores in Skim Milk." *Procedia Food Science* (Icef 11). <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211601X11001325>.
- Poliseli-scopel, Fábio H, Manuela Hernández-herrero, Buenaventura Guamis, and Victoria Ferragut. 2012. "Comparison of Ultra High Pressure Homogenization and Conventional Thermal Treatments on the Microbiological , Physical and Chemical Quality of Soymilk." *LWT - Food Science and Technology* 46: 42–48. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643811003562?via%3Dihub>.
- Poliseli-scopel, Fábio Henrique. 2012. "Study of the Ultra High Pressure Homogenization (UHPH) Technology for Producing High Quality Soymilk." Universitat Autònoma de Barcelona. https://ddd.uab.cat/pub/tesis/2012/hdl_10803_123362/fhps1de1.pdf.
- Poliseli-scopel, Fábio Henrique, Manuela Hernández-herrero, Buenaventura Guamis, and Victoria Ferragut. 2014. "Sterilization and Aseptic Packaging of Soymilk Treated by Ultra High Pressure Homogenization." *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 22: 81–88. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2014.01.001>.
- Predrag, Putnik et al. 2019. "Comparing the Effects of Thermal and Nonthermal Technologies on Pomegranate Juice Quality: A Review." *Food Chemistry* 279: 150–61. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814618320788?via%3Dihub>.

- Ramesh, M. N. 2003. *Sterilization of Foods*. 2nd ed. ed. Benjamin Caballero. Mysore.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B012227055X011482>.
- Rawson, A. et al. 2011. "Effect of Thermal and Non Thermal Processing Technologies on the Bioactive Content of Exotic Fruits and Their Products: Review of Recent Advances." *Food Research International* 44: 1.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996911001554?via%3Dihub>.
- Roig-Sagués, A. X., E Asto, I Engers, and M M Hernández-Herrero. 2015. "Improving the Efficiency of Ultra-High Pressure Homogenization Treatments to Inactivate Spores of Alicyclobacillus Spp . in Orange Juice Controlling the Inlet Temperature." *LWT - Food Science and Technology* 63(2): 866–71.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643815003382?via%3Dihub>.
- Sadek, Zeinab I. et al. 2018. "Microbiological Evaluation of Infant Foods Quality and Molecular Detection of Bacillus Cereus Toxins Relating Genes." *toxicology reports* 5: 871–77.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214750018304013?via%3Dihub>.
- Sevenich, R. et al. 2015. "The Impact of High Pressure Thermal Sterilization on the Microbiological Stability and Formation of Food Processing Contaminants in Selected Fish Systems and Baby Food Puree at Pilot Scale." *Food Control* 50: 539–47.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713514005714?via%3Dihub>.
- Sevenich, Robert et al. 2013. "Effect of High Pressure Thermal Sterilization on the Formation of Food Processing Contaminants." *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 20: 42–50.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1466856413001215?via%3Dihub>.
- . 2014. "High-Pressure Thermal Sterilization: Food Safety and Food Quality of Baby Food Puree." *Journal of Food Science* 79: 231.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1750-3841.12345>.
- Sevenich, Robert, and Alexander Mathys. 2018. "Continuous Versus Discontinuous Ultra-High-Pressure Systems for Food Sterilization with Focus on Ultra-High-Pressure Homogenization and High-Pressure Thermal Sterilization: A Review." *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17: 646–62.
- Stansted Fluid Power. 2020. "Stansted Fluid Power." <https://www.stanstedfluidpower.com/> (August 10, 2020).

- Statista. 2020. "Baby Food." <https://www.statista.com/outlook/40120000/102/baby-food/europe?currency=eur> (June 3, 2020).
- Suárez-jacobo, Ángela et al. 2011. "Influence of Ultra-High Pressure Homogenisation on Antioxidant Capacity , Polyphenol and Vitamin Content of Clear Apple Juice." 127: 447–54.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814611000653?via%3Dihub>
- U. S. Food & Drug. 2007. "Furan." <https://www.fda.gov/food/chemicals/furan> (August 10, 2020).
- Valencia-flores, Dora C, Manuela Hern, Buenaventura Guamis, and Victoria Ferragut. 2013. "Comparing the Effects of Ultra-High-Pressure Homogenization and Conventional Thermal Treatments on the Microbiological , Physical , and Chemical Quality of Almond Beverages." 78(2): 199–205. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23363294/>.
- Valencia Flores, Dora Cecilia. 2015. "Aplicación de La Ultra Alta Presión de Homogenización (UHPH) En La Elaboración de Licuados Vegetales de Almendra de Alta Calidad." <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/305099/dcvf1de1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Velázquez-Estrada, R.M. 2011. "Evaluation of the Efficacy of Ultra-High Pressure Homogenization Technology to Improve the Safety and Quality of Liquid Foods and Especially of Orange Juice." Universitat Autònoma de Barcelona. <https://ddd.uab.cat/record/101107>.
- . 2013. "Influence of Ultra High Pressure Homogenization Processing on Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Orange Juice." *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 18: 89–94.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1466856413000349?via%3Dihub>
- Wang, Lu et al. 2020. "Degradations of Aroma Characteristics and Changes of Aroma Related Compounds, PPO Activity, and Antioxidant Capacity in Sugarcane Juice during Thermal Process." *Journal of Food Science* 00: 2.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1750-3841.15108>.
- World Health Organization. 2019. "Commercial Foods for Infants and Young Children in the WHO European Region." *World Health Organization*: 6.
[https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-](https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/publications/2019/commercial-foods-for-infants-and-young-children-)
[prevention/nutrition/publications/2019/commercial-foods-for-infants-and-young-children-](https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/publications/2019/commercial-foods-for-infants-and-young-children-)

in-the-who-european-region.-policy-brief-on-two-new-reports-by-the-who-regional-office-for-europe-2019.

Yu, Yuanshan et al. 2014. "Effect of Ultra-High Pressure Homogenisation Processing on Phenolic Compounds, Antioxidant Capacity and Anti-Glucosidase of Mulberry Juice." *Food Chemistry* 153: 114–20.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814613019043?via%3Dihub>

7. AUTOAVALUACIÓ

La realització d'aquest treball m'ha permès adquirir coneixement sobre l'ús de tecnologies alternatives a les tèrmiques per a l'obtenció de productes pasteuritzats o esterilitzats amb una funcionalitat millorada. En concret he indagat sobre l'ús de les altes pressions en el processament alimentari, i en el procés de recerca m'he adonat del gran esforç que ha dut a terme la comunitat científica per posar a disposició l'ús d'aquesta tipologia de processament. Pel que fa a l'homogeneïtzació per ultra-altes pressions no hi ha tanta informació donat que és una tecnologia que s'ha començat a expandir en els darrers anys. Tot i així, he pogut aprendre sobre el seu funcionament, les seves característiques i les oportunitats que presenta per a la tecnologia dels aliments.

El procés de realització d'aquest treball ha suposat una gran superació personal donat que mai havia dut a terme el procés d'integració del disseny d'un producte amb l'ús d'una tecnologia determinada. Degut a la crisi sanitària que s'ha viscut en els darrers mesos durant la realització del treball, no vaig poder realitzar la part pràctica tal i com tenia planejada. Fet que va dificultar el desenvolupament del treball. Tot i les dificultats trobades pel camí, m'he demostrat a mi mateixa que he sigut capaç de fer-ho i les ganes de seguir aprenent sobre aquesta temàtica no han fet més que augmentar exponencialment.

Pel que fa a la temàtica del treball, vaig decidir-me per productes *baby food* perquè vaig estar treballant amb aquest tipus de producte durant la meva estada de pràctiques externes a Go Fruselva S.L. No obstant, m'he quedat amb la sensació de no haver explotat el suficient potencial que ofereix la tecnologia HUAP al ser un sistema que permet l'esterilització del producte, a més de la seva emulsificació. Per la qual cosa podria haver sigut interessant estudiar la viabilitat d'esterilitzar una matriu alimentària *baby food* formada per ingredients com la llet o el iogurt. Tot i així, m'enduc una gran experiència acadèmica de la realització d'aquest treball.