

Plasma frío atmosférico para el control de microorganismos patógenos en sistemas agroalimentarios

Cold atmospheric plasma to control pathogenic microorganisms in agrifood systems

Muñoz, N.^{a,b}, Concha-Meyer, A.^{b*}

^a Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias Agrarias y Alimentarias, Universidad Austral de Chile. Independencia 641, Valdivia, Chile.

^b Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL), Facultad de Ciencias Agrarias y Alimentarias, Universidad Austral de Chile. Independencia 641, Valdivia, Chile.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 18.01.2022

Accepted 20.04.2022

Keywords:

Cold Atmospheric Plasma

Food Safety

Agriculture

Microbiological Contamination

Review Article,

Food Science

*Corresponding author:

Anibal Concha

E-mail address:

anibal.concha@uach.cl

ABSTRACT

Cold atmospheric plasma (CAP) has generated great interest from the industrial sector and scientific community as a non-thermal antimicrobial technology, due to its valuable properties such as operational simplicity, low operating cost, and being environmentally friendly. CAP can be generated from various gases (air, nitrogen, helium, argon) using different methods. Its applications include multiple areas such as medicine, electronics, food science, and agriculture, among others. One of the main characteristics of CAP is its ability to eliminate pathogenic microorganisms through the generation of free radicals which disrupt cells membranes and generate their apoptosis. Therefore, various researchers have determined the effects of treatments with CAP on different food products, of vegetal and animal origin, contaminated with pathogenic microorganisms. In general, it has been found that CAP significantly reduces the microbiological load on different foods, without affecting their nutritional properties and quality in most cases. This shows that CAP is an innovative and effective tool to be used for the inactivation of microorganisms in food products.

RESUMEN

El plasma frío atmosférico (PFA) ha generado gran interés en el área industrial y en la comunidad científica, puesto que presenta valiosas propiedades, como lo son su simplicidad operativa, su bajo costo de funcionamiento, y su respeto por el medio ambiente. El PFA se puede generar a partir de varios gases (aire, nitrógeno, helio, argón) y por diferentes métodos. Sus aplicaciones abarcan múltiples áreas, como medicina, electrónica, ciencia de alimentos y agricultura, entre otros. Una de las principales características del PFA, es su capacidad de eliminar microorganismos patógenos, a través de la generación de radicales libres, los cuales disrumpen las membranas de las células y generan su apoptosis. Debido a esto, diversos investigadores han determinado los efectos de tratamientos con PFA sobre diferentes productos alimentarios, de origen vegetal y animal, contaminados con microorganismos patógenos. En general, se ha encontrado que PFA reduce significativamente la carga microbiológica de diferentes alimentos, sin afectar en la mayoría de los casos sus propiedades nutricionales y calidad. Lo que demuestra que el PFA es una herramienta innovadora y eficaz en la utilización para la inactivación de microorganismos en productos alimentarios.

Palabras clave: Plasma frío atmosférico, inocuidad, sistemas agroalimentarios, contaminación microbiológica.

INTRODUCCIÓN

Actualmente existe un enorme volumen de producción de alimentos a nivel mundial, que en su mayoría son producidos y consumidos de forma segura. Sin embargo, las estadísticas indican que en todo el mundo, una de cada diez personas padece una enfermedad transmitida por los alimentos cada año (OMS, 2015). La contaminación de los alimentos puede suceder en cualquier punto a lo largo de la cadena de producción

y, aunque existen métodos de limpieza y sanitización que eliminan o reducen la carga de microorganismos, siempre es complicado asegurar que el producto final cumple con los estándares de inocuidad alimentaria y que por lo tanto este es seguro para su consumo. Los alimentos pueden contaminarse con diferentes microorganismos en distintos puntos de la cadena producción, ya sea en el proceso de obtención de las materias primas tales como: cosecha, faenamiento, post-cosecha, post-faenamiento, así como también en su

procesamiento, envasado, transporte, almacenamiento y comercialización (Misra *et al.*, 2016). Los diversos actores a lo largo de la cadena de producción de alimentos están constantemente aplicando procesos y tecnologías emergentes de detección y descontaminación de los productos y de los espacios físicos, además de implementar normas nacional e internacional de calidad e inocuidad para garantizar que el producto final sea completamente seguro. Además, la población mundial se encuentra en momento de crecimiento exponencial, por lo tanto, para satisfacer esta creciente demanda de alimentos, la agricultura global y la industria alimentaria deben buscar nuevas tecnologías de producción y procesamiento de alimentos que sean sostenibles, que consumen menos agua y energía y que sean amigables con el medio ambiente (Ohta, 2016). Es así como el PFA se ofrece como una innovadora tecnología no térmica con un comprobado potencial para eliminar o inactivar una gran variedad de microorganismos, así como también esporas y biofilms, sin afectar las propiedades organolépticas de los alimentos y con un bajo impacto al medio ambiente. El presente artículo tiene por objetivo hacer una revisión de la evidencia científica respecto del potencial de la tecnología de PFA para garantizar la inocuidad de los alimentos y los productos agrícolas.

DESARROLLO

Plasma frío atmosférico (PFA)

El plasma es comúnmente denominado “el cuarto estado de la materia”, ya que no se caracteriza como una sustancia en estado sólido, líquido o gas. Su definición corresponde a un gas parcialmente ionizado que contiene iones, electrones, varias especies neutras y fotones en muchos niveles diferentes de excitación. Sin embargo, algunos investigadores han desarrollado una definición más precisa del plasma, definiéndolo como “un gas cuasi neutro de partículas cargadas y neutras caracterizado por un comportamiento colectivo” (Praveen *et al.*, 2019). Los plasmas corresponden a un medio químicamente activo y se crea aplicando energía a un gas para reorganizar la estructura electrónica de sus átomos y moléculas, para producir especies e iones excitados. Esta energía aplicada puede ser térmica o de alto voltaje o de radiaciones electromagnéticas (Tendero *et al.*, 2006). Los plasmas dependiendo de la forma en que sean activados y de la potencia de trabajo, se pueden clasificar como plasmas en equilibrio y en desequilibrio de acuerdo con la temperatura relativa de sus electrones, iones y especies neutras. Los plasmas en equilibrio se conocen como térmicos o “calientes”, ya que las temperaturas de las especies neutras, los iones y los electrones presentan aproximadamente del mismo orden manteniendo un equilibrio térmico. Los plasmas en desequilibrio se conocen como plasmas no térmicos

o “fríos”, ya que las temperaturas de las diferentes partículas varían entre sí. Los plasmas fríos son gases ionizados, que pueden generarse a presiones bajas y atmosféricas. Por lo general, se excitan y mantienen eléctricamente aplicando energía de radiofrecuencia (RF), energía de microondas (MW), corriente alterna (CA) y corriente continua (CC) (Domonkos *et al.*, 2021).

Aplicaciones del plasma frío atmosférico.

Los plasmas fríos han sido utilizados por la humanidad por alrededor de doscientos años. Su primera aplicación a principios del siglo XIX fue la lámpara de arco, que iluminaba las calles de grandes ciudades del mundo, como París, Londres y Nueva York. Los hermanos Siemens-Werner y William comenzaron con las aplicaciones industriales de la descarga eléctrica de plasma, quienes construyeron el primer ozonizador (1857) y el horno de arco eléctrico (1878). Posteriormente, a principios del siglo XX, primero en Niza (1907) y luego en San Petersburgo (1908), los reactores de plasma con descargas de barrera se introdujeron en la tecnología de tratamiento de agua potable (Stryczewska, 2020). En la actualidad, el plasma no térmico o “frío” ha sido ampliamente estudiado en varias áreas de la ciencia y la tecnología como, por ejemplo: En agricultura, para incentivar el crecimiento de plantas e incentivar la germinación; en la ciencia de los alimentos, para modificar sus propiedades, disipar pesticidas, inactivar enzimas y microorganismos; en medicina, para sanar heridas y tratar el cáncer; en electrónica, para generar iluminación y paneles de visualización (pantallas de equipos, televisores, etc.); en ciencia de materiales, para procesar polímeros, ingeniería textil, síntesis de nanopartículas; otras aplicaciones como, química analítica, generación de ozono, entre otros (Misra *et al.*, 2016). Durante las últimas décadas ha habido un interés creciente por parte de los investigadores y las industrias por reemplazar los sistemas de plasma frío a bajas presiones por sistemas de que funcionen a presión atmosférica, ya que los primeros presentan costos operacionales mayores debido a los sistemas de vacío y bombas que poseen (Bárdos y Baránková, 2010).

Fuentes de plasma frío atmosférico

Los gases de trabajo comúnmente utilizados son el aire, oxígeno, nitrógeno, helio, argón y sus mezclas. Existen varios métodos para generar PFA (Domonkos *et al.*, 2021), los cuales se presentan a continuación:

Descarga de barrera dieléctrica (DBD): Se genera aplicando una corriente eléctrica continua o alterna de alto voltaje a alta frecuencia a través de un espacio (de micrones a cm) entre dos electrodos separados por una barrera aislante dieléctrica. Consta de dos placas paralelas en disposiciones planas o cilíndricas. Utilizan

un material dieléctrico para cubrir al menos uno de los electrodos.

Plasma atmosférico a chorro: Produce una corriente de alta velocidad de especies químicas altamente reactivas con una emisión de luz débil. Consisten en dos electrodos cilíndricos concéntricos, donde el electrodo interno está conectado a una fuente de energía de radiofrecuencia o microondas a alta frecuencia, lo que provoca la ionización del gas de trabajo. El gas sale a través de una boquilla, lo que le da una apariencia de “chorro”.

Descarga de corona: Se genera mediante la aplicación de alto voltaje entre dos o más electrodos afilados. El electrodo “coronizador” se asemeja a una aguja o un alambre delgado. El proceso de ionización crea una corona alrededor de este electrodo activo. Las coronas son descargas muy débiles, con densidades de electrones e iones muy bajas.

Descarga de arco deslizante: Se conocen como fuentes de plasma caliente, sin embargo, en condiciones específicas también pueden producir plasma frío. Puede combinar las ventajas de los plasmas térmicos y no térmicos. La descarga está formada por un alto voltaje en el punto donde la distancia entre los electrodos divergentes es la más corta (rango de milímetros) (Figura 1).

Aplicaciones del plasma frío atmosférico para el control de patógenos en sistemas agroalimentarios

Durante los últimos siglos, el tratamiento térmico ha sido la principal técnica de procesamiento de alimentos utilizada por la industria alimentaria para el control de microorganismos patógenos. Sin embargo,

el uso de temperaturas muy elevadas puede producir efectos indeseables sobre los alimentos como cambios en el color, textura, sabor y pérdida de nutrientes, lo que ha llevado a los investigadores a buscar alternativas no térmicas para el procesamiento de alimentos. En las últimas décadas, el plasma frío ha generado gran interés como tecnología no térmica para el procesamiento de alimentos y la inactivación de microorganismos patógenos (Pankaj *et al.*, 2018). Presenta numerosas ventajas potenciales sobre los métodos convencionales, como su naturaleza no tóxica, bajos costos operativos, tiempo de tratamientos cortos, reducción significativa del consumo de agua a lo largo de los procesos de desinfección y su aplicabilidad a una amplia variedad de productos, tanto líquidos como sólidos (Patil *et al.*, 2016).

Mecanismo de inactivación de patógenos por plasma frío atmosférico

Los principales componentes activos del PFA que utiliza el aire como gas de trabajo son cargas libres (electrones e iones positivos y negativos), radicales libres, productos de conversión estables (ej. Ozono) átomos y moléculas excitados y fotones energéticos (ej. UV) (Stoffels *et al.*, 2008). La mayoría de las especies reactivas producidas por las fuentes de PFA comúnmente utilizadas incluyen especies reactivas a base de oxígeno (ROS), por ejemplo, superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo (OH^\cdot), oxígeno singlete (1O_2), ozono (O_3), alcoxilo (RO^\cdot) y peroxilo (RO_2^\cdot) y especies a base de nitrógeno (RNS), por ejemplo, óxido nítrico (NO^\cdot), dióxido de nitrógeno (NO_2^\cdot)

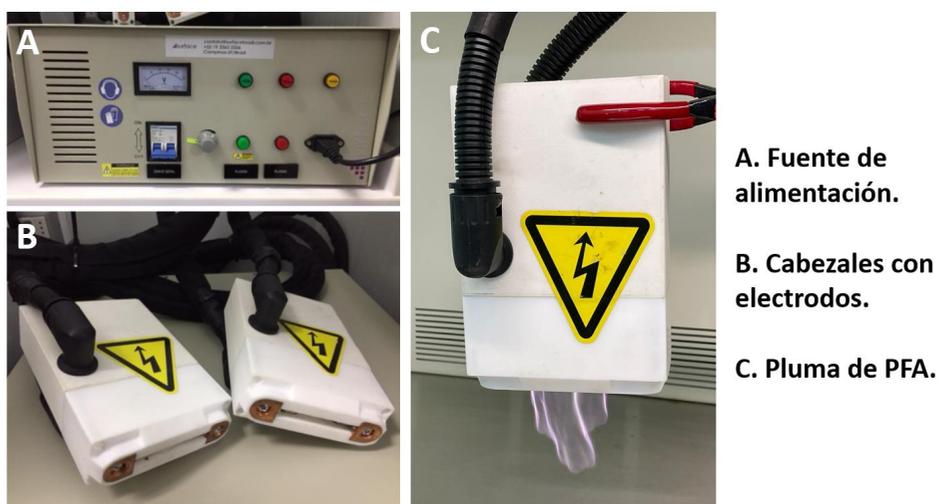


Figura 1. Equipo de plasma frío atmosférico de arco deslizante (SAP2 Corona Jet, Surface Brasil, Campinas, Brasil). Ubicado en Laboratorio de Investigación en Microbiología, ICYTAL, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Figure 1. Gliding arc cold atmospheric plasma equipment (SAP2 Corona Jet, Surface Brasil, Campinas, Brazil), located at the Microbiology Research Laboratory, ICYTAL, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

y peroxinitrito (ONOO⁻) (Bourke *et al.*, 2017). Los microorganismos bombardeados con estas partículas activas presentan erosión de sus paredes celulares, lo cual permite la ruptura de enlaces químicos en sus membranas celulares. La disrupción de la membrana celular provoca su apertura, las partículas activas entonces penetran al citoplasma de la célula, donde una vez en el interior, las especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno (RONS) principalmente, provocan la formación de fragmentos moleculares que conducen a cambios morfológicos de la célula, causan daño por oxidación en proteínas, en el ADN y el ARN, provocando finalmente la apoptosis y destrucción bacteriana. Se ha demostrado que varios de estos productos desempeñan un papel sobre la inactivación bacteriana, sin embargo, los mecanismos exactos todavía están siendo investigados (Domonkos *et al.*, 2021).

Plasma frío atmosférico contra patógenos agrícolas

Las tecnologías de plasma frío han surgido como un método prometedor y recientemente han ganado gran atención por parte de los científicos e investigadores de alimentos. Su contribución en las operaciones agrícolas incluye la descontaminación de semillas o cultivos destinados a la siembra o almacenamiento, desinfección de las superficies o herramientas de procesamiento, la mejora de la germinación o el crecimiento de las semillas, recuperación del suelo, reducción de la invasión de

patógenos y la eliminación de etileno del aire para reducir la tasa de envejecimiento (Ohta, 2016).

Respecto al control del PFA frente a patógenos contaminantes en semillas o cultivos. En el Cuadro 1, se presenta un resumen de algunos ejemplos de inactivación de microorganismos por PFA en productos agrícolas.

Dentro de los primeros estudios, Selcuk *et al.* (2008), buscaron determinar la eficacia de un sistema de plasma frío de baja presión (LPCP) de diseño propio que utiliza gases de aire o SF₆, para la inactivación y/o eliminación de dos hongos patógenos, *Aspergillus spp.* y *Penicillium spp.* en la superficie de semillas artificialmente contaminadas. Utilizaron semillas de tomate, trigo, poroto, garbanzo, porotos de soja, cebada, avena, centeno, lentejas y maíz. El proceso de descontaminación de plasma se realizó mediante un proceso por lotes en la cámara de vacío, utilizando la inyección de gas seguido de la descarga de plasma durante 5-20 min. En los resultados, el tratamiento con plasma reducía el recuento de microorganismos fúngicos en semillas a niveles bajo el 1% de los recuentos iniciales, dependiendo de la contaminación original, sin afectar la calidad de la germinación de las semillas. El tratamiento con plasma, utilizando como gas de trabajo SF₆, durante 15 min, disminuyó la carga microbiológica para ambas especies por 3 log₁₀. Por lo tanto, este estudio confirmó que el tratamiento con plasma puede ser un método de descontaminación rápido y funcional que permite la eliminación de hongos de las superficies de semillas. En

Cuadro 1. Inactivación de microorganismos por PFA en algunos productos agrícolas como semillas y plantas.

Table 1. Inactivation of microorganisms by cold atmospheric plasma in some agricultural products such as seeds and plants.

Referencias	Producto agrícola	Tipo de plasma	Tiempo (minutos)	Patógenos	Reducción microbiológica
(Selcuk <i>et al.</i> , 2008)	Varios granos y semillas	Plasma frío de Hexafluoruro de azufre (SF ₆)	15	<i>Aspergillus spp.</i> y <i>Penicillium spp.</i>	3 log ₁₀
(Schnabel <i>et al.</i> , 2012)	Semillas de <i>Brassica napus</i>	Plasma frío DBD	15	Endosporas de <i>Bacillus atrophaeus</i>	Entre 0,5 y 5,2 log ₁₀
(Waskow <i>et al.</i> , 2018)	Semillas de lentejas	Plasma frío DCSBD	10	<i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	8,8 log ₁₀
(Waskow <i>et al.</i> , 2018)	Semillas de lentejas	Plasma frío DCSBD	3	<i>Escherichia coli</i>	5,2 log ₁₀
(Waskow <i>et al.</i> , 2018)	Semillas de lentejas	Plasma frío DCSBD	5	Endosporas de <i>Geobacillus stearothermophilus</i>	Entre 1 y 2 log ₁₀
(Ebihara <i>et al.</i> , 2013)	Plantas de tomate y berenjenas	Niebla de ozono utilizando la superficie DBD	0,5	Pulgones	Eliminados

Nota: Cuadro adaptado y modificado de Ohta (2016).

otro estudio, Schnabel *et al.* (2012), estudiaron semillas de *Brassica napus* que fueron contaminadas con endosporas de *Bacillus atrophaeus* y posteriormente fueron tratadas con plasma DBD directa e indirectamente con aire procesado con plasma de microondas. Después de un tiempo de tratamiento de 15 min, se alcanzaron tasas de reducción de la carga microbiológica entre 0,5 y 5,2 \log_{10} . Además, la viabilidad de las semillas no se vio afectada por el tratamiento. En trabajos más recientes, investigadores como Waskow *et al.* (2018), estudiaron el tratamiento con PFA de descarga de barrera de superficie coplanar difusa (DCSBD) sobre semillas de lentejas inoculadas artificialmente para determinar la eficiencia de inactivación de patógenos transmitidos por alimentos y hongos. Se observó una reducción de la carga microbiológica máxima de 8,8 \log_{10} después de 10 min de tratamiento con CAPP para semillas con alta inoculación inicial de bacterias gram positivas (*Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*). Para bacterias gram negativas (*E. coli*) la reducción de la carga microbiológica más alta fue de 5,2 \log_{10} después de un tratamiento con CAPP más corto de 3 min, mientras que las semillas inoculadas con endosporas de *Geobacillus stearothermophilus* revelaron solo reducciones bajas entre 1 y 2 \log_{10} después de 5 min de tratamiento. Por lo que el tratamiento con plasma sobre semillas de lentejas dio como resultado una reducción altamente eficiente de microorganismos en su superficie, al tiempo que preservó las propiedades de germinación de las semillas, al menos durante tiempos de tratamiento moderados. Si bien la descontaminación por hongos es un tema importante de seguridad en las semillas y los granos almacenados, la infestación de insectos en las semillas es otra cuestión de gran importancia. Al respecto, Ebihara *et al.* (2013), desarrollaron un sistema portátil de esterilización por niebla de ozono utilizando la superficie DBD para exterminar plagas (insectos dañinos) en campos agrícolas e invernaderos. En su investigación encontraron que los pulgones fueron exterminados en 30 s sin generar daños notables en las hojas de las plantas tratadas (Tomate y berenjena).

Otro patógeno de particular interés presente en las plantas, corresponde al virus de la mancha anular necrótica (Prunus necrotic ringspot virus o PNRSV), el cual causa un amplio número de enfermedades que afectan en su mayoría a frutas con hueso o "hueso", como las cerezas, las almendras, los duraznos o las ciruelas. Las plantas infectadas con este virus presentan una reducción de su crecimiento y rendimiento, respecto de las plantas sanas, además, muestran hojas moteadas o con mosaicos, manchas, anillos y líneas irregulares cloróticas, zonas que luego se necrosan y caen, dejando la hoja con aspecto esquelético. El virus se transmite por el polen y las semillas, lo que contribuye a su rápida propagación en los árboles (Aparicio *et al.*, 1999). Los autores Filipić *et al.* (2019), estudiaron

el efecto de tratamientos con PFA sobre la inactivación del virus "Y" de la papa como modelo en el agua utilizada en sistemas de riego cerrados. Demostraron que con tratamientos de 1 min con plasma se lograba la inactivación exitosa del virus en muestras de agua, incluso en altas concentraciones. Lo que propone al plasma como una potencial herramienta de inactivación de virus eucariotas para fuentes de agua y, por lo tanto, podría proporcionar una solución para la transmisión de virus de plantas mediada por riego. En otra investigación, Adhikari *et al.* (2019), encontraron en el plasma frío una opción viable para producir una variedad de RONS de manera controlada en agua tratada, la cual podría ayudar a activar los componentes del sistema de defensa de las plantas. Encontraron que la irrigación con agua activada con plasma regula al alza el crecimiento de las plántulas, las RONS endógenas, la hormona de defensa (ácido salicílico y ácido jasmónico) y la expresión del gen clave relacionado con la patogénesis. Sin embargo, hasta la fecha, no se han realizado investigaciones sobre los posibles efectos de tratamientos con PFA sobre el PNRSV, pero, en base a la literatura existente sobre los efectos del PFA en la inactivación de microorganismos en semillas, plantas, plántulas y agua, es posible extrapolar y sugerir que se esperarían efectos similares a los anteriormente descritos sobre PNRSV, con una reducción de su carga microbiológica e inactivación en las hojas de las plantas infectadas.

Plasma frío atmosférico contra patógenos en alimentos

La inactivación de microorganismos en la industria alimentaria significa una mejora en la seguridad alimentaria, que es en parte uno de los mayores desafíos de este sector. Los diferentes procesos por los que atraviesan los productos alimentarios buscan mejorar su capacidad de ser comestibles, su palatabilidad y prolongar su vida útil, al tiempo que se mantiene la calidad y propiedades del alimento. El tratamiento con PFA mejora la conservación de los alimentos y al actuar a temperatura ambiente reduce los efectos térmicos negativos sobre las propiedades nutricionales y la calidad de los alimentos. Sobre microorganismo, se ha visto que el PFA es capaz de inactivar bacterias, virus, micotoxinas y hongos, tanto en alimentos de origen animal como vegetal (Domonkos *et al.*, 2021).

El PFA ha sido utilizado en el tratamiento de la superficie de varios alimentos de origen vegetal y contra varios microorganismos distintos. En el Cuadro 2, se presenta un resumen de algunos ejemplos de inactivación de microorganismos por PFA en productos alimentarios de origen vegetal.

Autores como Kim *et al.* (2017), investigaron el tratamiento de tomates Cherry con plasma frío generado por microondas frente a la contaminación por *Salmonella*

Cuadro 2. Inactivación de microorganismos por PFA en algunos productos alimentarios de origen vegetal.**Table 2.** Inactivation of microorganisms by cold atmospheric plasma in some plant-based food products.

Referencias	Producto alimentario	Tipo de plasma	Tiempo (minutos)	Patógenos	Reducción microbiológica
(Kim y Min, 2017)	Tomate Cherry	Plasma frío generado por microondas	9	<i>Salmonella</i>	3,5 log ₁₀
(Schnabel <i>et al.</i> , 2015)	Lechuga de cordero y zanahoria	Aire procesado por plasma frío generado por microondas	15	<i>E. coli</i> , <i>P. marginalis</i> , <i>P. carotovorum</i> , <i>L. innocua</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. atrophaeus</i> , y <i>C. albicans</i>	Mayor a 6 log ₁₀
(Schnabel <i>et al.</i> , 2015)	Fruta y pulpa de Manzana y fresa	Aire procesado por plasma frío generado por microondas	15	<i>E. coli</i> , <i>P. marginalis</i> , <i>P. carotovorum</i> , <i>L. innocua</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. atrophaeus</i> , y <i>C. albicans</i>	Mayor a 6 log ₁₀
(Montenegro <i>et al.</i> , 2002)	Jugo de manzana	Sistema de descargas de plasma frío de aguja/placa	0,6	<i>Escherichia coli</i>	7 log ₁₀
(Giannoglou <i>et al.</i> , 2020)	Ensalada de rúcula ALC	Plasma frío DBD superficial	5 a 20	Principalmente <i>Pseudomonas spp.</i>	0,57 a 1,02 log ₁₀

Nota: Cuadro adaptado y modificado de Mandal *et al.* (2018).

lla. En condiciones óptimas, el tratamiento con plasma frío por 9 min produjo una reducción de la carga microbiológica de *Salmonella* en 3,5 log₁₀, sin afectar las propiedades biológicas de los tomates Cherry. En otro estudio, Schnabel *et al.* (2015), estudiaron los efectos de tratamientos con aire procesado por plasma frío generado por microondas sobre cinco productos frescos diferentes (Hortalizas: Lechuga de cordero y zanahoria; Frutas: Fruta y pulpa de Manzana y frutilla) contaminados con siete microorganismos diferentes (*E. coli*, *P. marginalis*, *P. carotovorum*, *L. innocua*, *S. aureus*, *B. atrophaeus*, y *C. albicans*). Las muestras se trataron con el aire procesado por plasma durante máximo 15 min y se detectaron factores de reducción de la carga microbiológica mayores de 6 log₁₀. Además, los exámenes sensoriales mostraron solo pequeñas influencias en la textura, apariencia y olor de los productos. El PFA ha demostrado ser útil en la inactivación de microorganismos presentes en productos sólidos de origen vegetal, sin embargo, también parece ser útil frente a microorganismos en productos líquidos. En los alimentos líquidos, a diferencia de los sólidos, la profundidad de penetración no es tan importante porque cada partícula entra en contacto con el plasma aplicado o con las especies reactivas generadas (Misra *et al.*, 2016). Montenegro *et al.* (2002), estudiaron los efectos de tratamientos con un sistema de descargas de plasma frío de aguja/placa sobre *Escherichia coli* presente en jugo de manzana,

demostrando ser eficaz para reducir la carga microbiológica hasta en 7 log₁₀. Estos resultados muestran un gran potencial para el uso de plasma no térmico como técnica de conservación de alimentos. Otros productos de interés dentro de la seguridad alimentaria corresponden a los alimentos listos para el consumo (ALC), los que han ido ganando popularidad en todo el mundo durante los últimos años debido a su conveniencia para el consumidor, debido a que no requieren preparación adicional. Sin embargo, algunas investigaciones han relacionado estos ALC con brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos. El efecto de tratamientos con CAP sobre ALC igualmente ha sido estudiado. Giannoglou *et al.* (2020), investigaron el efecto de CAP de descarga de barrera dieléctrica superficial en ensalada de rúcula lista para comer, recién cortada, con el objetivo de mantener su calidad y mejorar su conservación. Se observó una reducción de la carga microbiológica total de 0,57 a 1,02 log₁₀ después de tiempos de tratamiento entre 5 y 20 min, respectivamente. *Pseudomonas spp.* resulto ser el principal patógeno y el factor de deterioro predominante.

En productos de origen animal, en el Cuadro 3 se presenta un resumen de algunos ejemplos de inactivación de microorganismos por PFA en productos alimentarios de origen animal.

Autores como Yong *et al.* (2017), examinaron el uso de plasma flexible de capa fina para inactivar bacterias

Cuadro 3. Inactivación de microorganismos por PFA en algunos productos alimentarios de origen animal.**Table 3.** Inactivation of microorganisms by cold atmospheric plasma in some animal-based food products.

Referencias	Producto alimentario	Fuente de plasma	Tiempo (minutos)	Patógenos	Reducción microbiológica
(Yong <i>et al.</i> , 2017)	Cecinas comerciales	Plasma flexible de capa fina	10	<i>Escherichia coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella Typhimurium</i> y <i>Aspergillus flavus</i>	Entre 2 y 3 log ₁₀
(Patange <i>et al.</i> , 2017)	Chuleta de cordero	PFA de DBD	1	<i>B. thermosphacta</i>	0,8 log ₁₀
(Park y Ha, 2015)	Filetes de pescado seco (<i>Stephanolepis cirrhifer</i>)	Plasma de oxígeno frío	3 a 20	<i>Penicillium citrinum</i> y <i>Cladosporium cladosporioides</i>	0,91 log ₁₀ y 1,04 log ₁₀ respectivamente
(González-González <i>et al.</i> , 2021)	Carne de pollo ALC	Descarga directa piezoeléctrica de bajo voltaje generada por CAP	5	<i>Salmonella</i> y <i>Escherichia coli</i>	1,4 y 1,8 log ₁₀

Nota: Cuadro adaptado y modificado de Mandal *et al.* (2018).

y moho en cecinas comerciales y evaluar sus cambios fisicoquímicos. Después del tratamiento con plasma durante 10 min, las poblaciones de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium* y *Aspergillus flavus* en la cecina redujeron su carga microbiológica en aproximadamente 2 a 3 log₁₀. Sin embargo, la evaluación sensorial indicó efectos negativos del tratamiento con plasma sobre el sabor, el mal olor y la aceptabilidad general de la cecina. En conclusión, el sistema de plasma flexible de capa fina podría emplearse como medio para la descontaminación de la cecina, con ligeros cambios en la calidad fisicoquímica del producto. En otro estudio, Patange *et al.* (2017), determinaron el potencial del PFA de DBD para el control de *B. thermosphacta* (microorganismo de deterioro predominante en la carne), utilizando una chuleta de cordero inoculada en su superficie. Después de 1 min post-tratamiento con PFA la carga microbiológica se redujo en 0,8 log₁₀. Por otro lado, existe un margen para mejorar aún más el control microbiano en la prolongación de la vida útil del almacenamiento de la carne mediante el ajuste de la modalidad de tratamiento. También, se ha evaluado la eficacia de tratamientos con PFA sobre patógenos en productos procedentes del mar. Park y Ha. (2015), estudiaron los efectos del plasma de oxígeno frío (COP) sobre *Penicillium citrinum* y *Cladosporium cladosporioides* en la superficie de filetes de pescado seco (*Stephanolepis cirrhifer*). Los tratamientos con COP redujeron la carga microbiológica en los filetes de forma correlativa al tiempo del tratamiento (3 a 20 min), por otro lado, las diferencias en los recuen-

tos comenzaron a ser significativas sobre los 5 min de tratamiento con COP. La disminución promedio en la carga microbiológica de *C. cladosporioides* y *P. citrinum* fue de 0,91 y 1,04 log₁₀, respectivamente. Sin embargo, los filetes expuestos a 20 min de COP mostraron un aumento de la sustancia reactiva al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y una disminución de la aceptación sensorial general. Los autores determinaron, que tratamientos con COP por 10 min podría ser eficaz para reducir sobre el 90% del moho e inactivarlo sin causar cambios nocivos en las cualidades fisicoquímicas y sensoriales del filete. Por otro lado, sobre productos ALC, autores como González-González *et al.* (2021), evaluaron la eficacia antimicrobiana de una descarga directa piezoeléctrica de bajo voltaje generada por CAP y lavado con nanoemulsión cargada con linalol (LW) contra *Salmonella* y *Escherichia coli* en productos ALC de carne de pollo. Los tratamientos individuales con CAP por 5 min lograron una reducción de la carga microbiológica para *E. coli* y *Salmonella* entre 1,4 y 1,8 log₁₀. La combinación de CAP (5 min) seguido de LW (25 min) mostró reducciones más altas entre 2,76 y 3,24 log₁₀ para *E. coli* y *Salmonella*, respectivamente, sin afectar los niveles de oxidación de lípidos de la carne de pollo ALC.

CONCLUSIONES

El PFA constituye una tecnología novedosa, con múltiples aplicaciones en áreas como la investigación, física, química, biología y medicina, entre otros. Al trabajar a temperatura ambiente resulta ser una tecnolo-

gía más rentable en cuanto a costos operacionales debido a la falta de sistemas de vacío, es una tecnología amistosa con el medio ambiente debido a su naturaleza no tóxica, la aplicación reducida de productos químicos y una reducción en el consumo de agua y energía, además de ser aplicable a materiales sensibles al calor, como tejidos vegetales o animales, sin afectar su valor nutricional y su calidad.

Este trabajo de investigación, en general, demostró que el PFA es eficaz en la inactivación de microorganismos patógenos presentes en sistemas agroalimentarios. A nivel de la industria agrícola, el PFA es utilizado en el control de microorganismos patógenos presentes principalmente en semillas, y otros usos derivan en la descontaminación de hojas y plántulas, tanto de plagas (pulgonos) como de virus (virus Y de la papa), y en potenciar el sistema inmune de las plantas en general. A nivel de la industria alimentaria, el PFA es ampliamente utilizado en la inactivación y control de microorganismos patógenos tanto en alimentos de origen vegetal, como lechugas, tomate y zanahorias, entre otros, como en microorganismo patógenos en alimentos de origen animal, como carne de res, cordero y pescados, entre otros.

Finalmente, el PFA se presenta como una tecnología beneficiosa y con un gran potencial en diversas áreas, por lo que se puede sugerir que su uso y desarrollo seguirá creciendo. Por otro lado, además, a futuro los investigadores tienen el desafío de determinar con precisión el mecanismo de acción del plasma y las especies reactivas que genera, para obtener un mejor control, manejo y eficiencia de esta nueva tecnología.

REFERENCIAS

- Adhikari, B., Adhikari, M., Ghimire, B., Park, G., Choi, E.H., 2019. Cold Atmospheric Plasma-Activated Water Irrigation Induces Defense Hormone and Gene expression in Tomato seedlings. *Scientific Reports* 9(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52646-z>
- Aparicio, F., Sánchez-Pina, M.A., Sánchez-Navarro, J.A., Pallás, V., 1999. Location of Prunus necrotic ringspot Ilarvirus within pollen grains of infected nectarine trees: Evidence from RT-PCR, dot-blot and in situ hybridisation. *European Journal of Plant Pathology* 105(6), 623–627. <https://doi.org/10.1023/A:1008783705183>
- Bárdos, L., Baránková, H., 2010. Cold atmospheric plasma: Sources, processes, and applications. *Thin Solid Films* 518(23), 6705–6713. <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2010.07.044>
- Bourke, P., Ziuzina, D., Han, L., Cullen, P.J., Gilmore, B.F., 2017. Microbiological interactions with cold plasma. *Journal of Applied Microbiology* 123(2), 308–324. <https://doi.org/10.1111/jam.13429>
- Domonkos, M., Tichá, P., Trejbal, J., Demo, P., 2021. Applications of cold atmospheric pressure plasma technology in medicine, agriculture and food industry. *Applied Sciences* 11(11). <https://doi.org/10.3390/app11114809>
- Ebihara, K., Mitsugi, F., Ikegami, T., Nakamura, N., Hashimoto, Y., Yamashita, Y., Baba, S., Stryczewska, H.D., Pawlat, J., Teii, S., Sung, T.L., 2013. Ozone-mist spray sterilization for pest control in agricultural management. *EPJ Applied Physics* 61(2), 1–5. <https://doi.org/10.1051/epiap/2012120420>
- Filipić, A., Primc, G., Zaplotnik, R., Mehle, N., Gutierrez-Aguirre, I., Ravnikar, M., Mozetič, M., Žel, J., Dobnik, D., 2019. Cold Atmospheric Plasma as a Novel Method for Inactivation of Potato Virus Y in Water Samples. *Food and Environmental Virology* 11(3), 220–228. <https://doi.org/10.1007/s12560-019-09388-y>
- Giannoglou, M., Stergiou, P., Dimitrakellis, P., Gogolides, E., Stoforos, N.G., Katsaros, G., 2020. Effect of Cold Atmospheric Plasma processing on quality and shelf-life of ready-to-eat rocket leafy salad. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 66, 102502. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102502>
- González-González, C.R., Labo-Popoola, O., Delgado-Pando, G., Theodoridou, K., Doran, O., Stratakos, A.C., 2021. The effect of cold atmospheric plasma and linalool nanoemulsions against Escherichia coli O157:H7 and Salmonella on ready-to-eat chicken meat. *Lwt* 149, 111898. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111898>
- Kim, J.H., Min, S.C., 2017. Microwave-powered cold plasma treatment for improving microbiological safety of cherry tomato against Salmonella. *Postharvest Biology and Technology* 127, 21–26. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.01.001>
- Misra, N.N., Schlüter, O., Cullen, P.J., 2016. Plasma in Food and Agriculture. *Cold Plasma in Food and Agriculture: Fundamentals and Applications* 1–16. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801365-6.00001-9>
- Montenegro, J., Ruan, R., Ma, H., Chen, P., 2002. Inactivation of E. coli O157: H7 using a pulsed nonthermal plasma system. *Journal of Food Science* 67(2), 646–648. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10653.x>
- Ohta, T., 2016. Plasma in Agriculture. In *Cold Plasma in Food and Agriculture: Fundamentals and Applications*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801365-6.00008-1>
- Pankaj, S.K., Wan, Z., Keener, K.M., 2018. Effects of cold plasma on food quality: A review. *Foods* 7(1). <https://doi.org/10.3390/foods7010004>
- Park, S.Y., Ha, S.D., 2015. Application of cold oxygen plasma for the reduction of Cladosporium cladosporioides and Penicillium citrinum on the surface of dried filefish (Stephanolepis cirrhifer) fillets. *International Journal of Food Science and Technology* 50(4), 966–973. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12730>
- Patange, A., Boehm, D., Bueno-Ferrer, C., Cullen, P.J., Bourke, P., 2017. Controlling Brochothrix thermosphacta as a spoilage risk using in-package atmospheric cold plasma. *Food Microbiology* 66, 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.002>
- Patil, S., Bourke, P., Cullen, P.J., 2016. Principles of Nonthermal Plasma Decontamination. In *Cold Plasma in Food and Agriculture: Fundamentals and Applications*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801365-6.00006-8>
- Praveen, K.M., Pious, C.V., Thomas, S., Grohens, Y., 2019. Relevance of Plasma Processing on Polymeric Materials and

- Interfaces. In *Non-Thermal Plasma Technology for Polymeric Materials*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813152-7.00001-9>
- Schnabel, U., Niquet, R., Krohmann, U., Winter, J., Schlüter, O., Weltmann, K.D., Ehlbeck, J., 2012. Decontamination of microbiologically contaminated specimen by direct and indirect plasma treatment. *Plasma Processes and Polymers* 9(6), 569–575. <https://doi.org/10.1002/ppap.201100088>
- Schnabel, U., Niquet, R., Schlüter, O., Gniffke, H., Ehlbeck, J., 2015. Decontamination and Sensory Properties of Microbiologically Contaminated Fresh Fruits and Vegetables by Microwave Plasma Processed Air (PPA). *Journal of Food Processing and Preservation* 39(6), 653–662. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12273>
- Selcuk, M., Oksuz, L., Basaran, P., 2008. Decontamination of grains and legumes infected with *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. by cold plasma treatment. *Biore-source Technology* 99(11), 5104–5109. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.076>
- Stoffels, E., Sakiyama, Y., Graves, D.B., 2008. Cold atmospheric plasma: Charged species and their interactions with cells and tissues. *IEEE Transactions on Plasma Science* 36(4-2), 1441–1457. <https://doi.org/10.1109/TPS.2008.2001084>
- Stryczewska, H.D., 2020. Supply systems of non-thermal plasma reactors. Construction review with examples of applications. *Applied Sciences* 10(9). <https://doi.org/10.3390/app10093242>
- Tendero, C., Tixier, C., Tristant, P., Desmaison, J., Leprince, P., 2006. Atmospheric pressure plasmas: A review. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy* 61(1), 2–30. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2005.10.003>
- Waskow, A., Betschart, J., Butscher, D., Oberbossel, G., Klöti, D., Büttner-Mainik, A., Adamcik, J., von Rohr, P.R., Schuppler, M., 2018. Characterization of Efficiency and Mechanisms of Cold Atmospheric Pressure Plasma Decontamination of Seeds for Sprout Production. *Frontiers in Microbiology* 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03164>
- Yong, H.I., Lee, H., Park, S., Park, J., Choe, W., Jung, S., Jo, C., 2017. Flexible thin-layer plasma inactivation of bacteria and mold survival in beef jerky packaging and its effects on the meat's physicochemical properties. *Meat Science* 123, 151–156. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.09.016>

