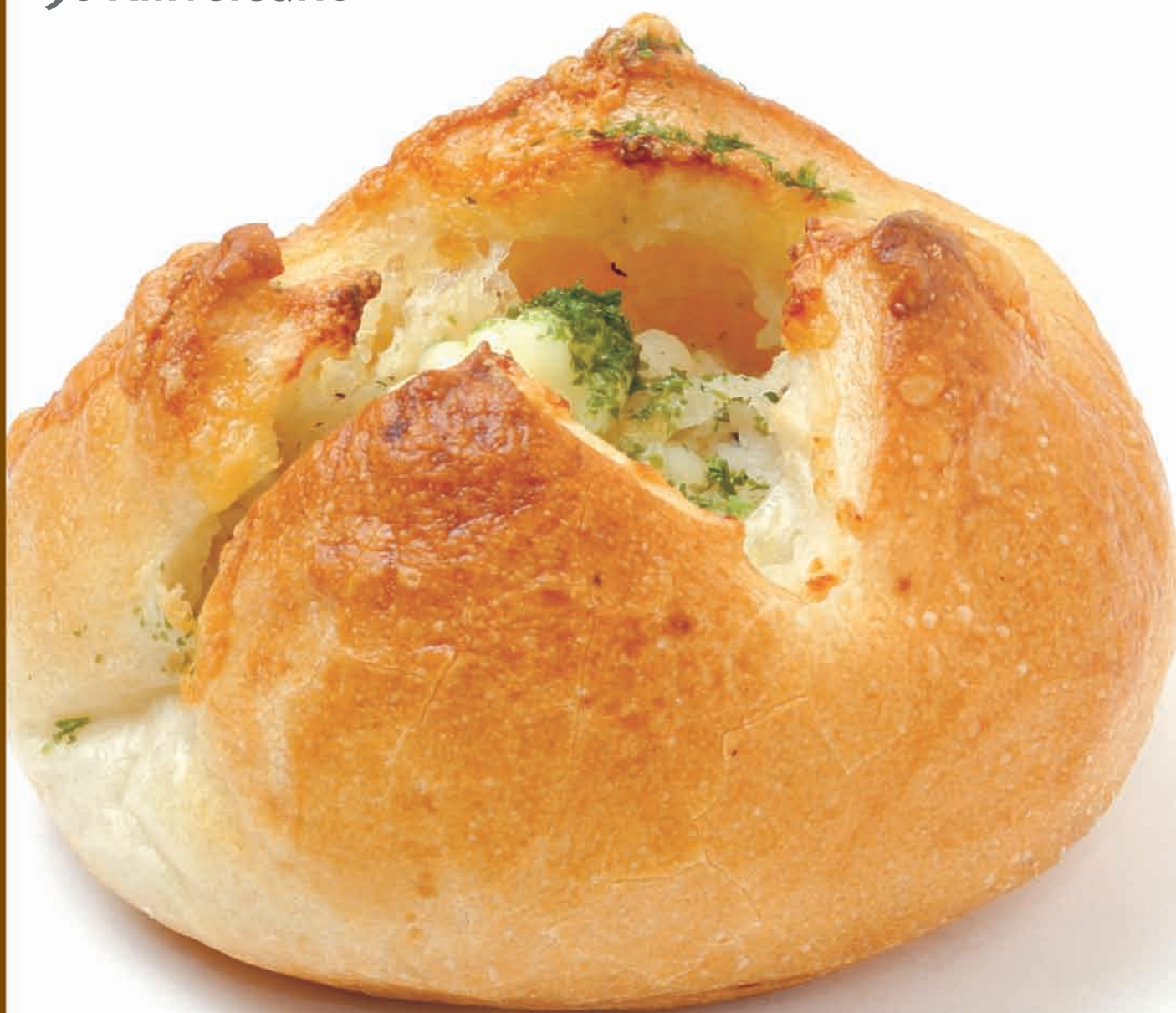


## NUESTRAS EMPRESAS

**Hero** España  
90 Aniversario

## ARTÍCULO

Sterilisation and virus inactivation  
by Supercritical Fluids: A review



## ARTÍCULO

Valorización de lodos de depuradora de industrias de  
transformados vegetales mediante procesos de compostaje dirigido





ALGUNOS LO TIENEN  
DIFÍCIL PARA HACER UN  
BUEN ABREFÁCIL

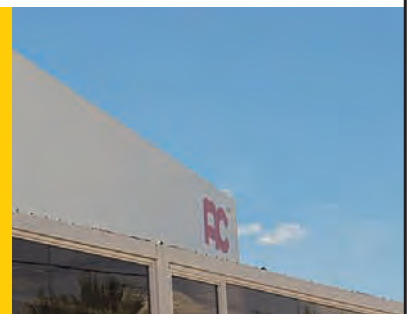


*Las cosas más  
sencillas de  
manejar esconden  
siempre un  
complejo proceso  
de trabajo.*

*En Auxiliar Conservera el diseño, la tecnología y el control de calidad se dan la mano para conseguir el sistema de apertura de envases más cómodo, seguro y práctico del mercado.*



SI USTED  
TIENE UN  
PRODUCTO,  
NOSOTROS  
PODEMOS  
ENVASARLO.



Murcia • Ctra. Torrealta, s.n. • telf.: 968 64 47 88 • Fax: 968 61 06 86 • 30500 Molina de Segura (Murcia - España)  
Sevilla • Ctra. comarcal 432, km. 147 • telf.: 95 594 35 94 • fax: 95 594 35 93 • 41510 Mairena del Alcor (Sevilla - España)

# CURSOS 2013

Curso de MICROBIOLOGÍA E HIGIENE EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA  
Del 18 al 20 febrero 2013

Curso de SEGURIDAD EN LAS INSTALACIONES ELÉCTRICAS  
Principios de marzo

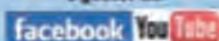
Curso de MANTENIMIENTO INDUSTRIAL I  
Viernes-Sábados del 22 de febrero al 09 de marzo

Curso de GESTIÓN DE EQUIPOS Y TRAZABILIDAD DE LAS MEDICIONES  
METROLOGÍA Y CALIBRACIÓN.  
28 y 29 de mayo 2013



[www.ctnc.es](http://www.ctnc.es)

Síguenos en:



Curso Online. Buenas prácticas de fabricación y control de los alimentos esterilizados.  
Tecnologías en el procesado, envasado y control de calidad de alimentos  
Del 8 al 29 de abril de 2013

Curso Online. ACTUALIZACIONES EN LOS REQUISITOS PARA EXPORTACIÓN DE PRODUCTOS A EEUU.  
Registros FDA  
17 al 19 junio 2013

CTC

Centro  
Tecnológico  
Nacional de la  
Conserva y  
Alimentación



Concordia, s/n / 30500 Molina de Segura - Murcia

# Editorial

## Innovando sin saberlo

**D**icen las estadísticas del INE que en la Región de Murcia existían unas 1064 empresas innovadoras en el periodo 2008-2010, que realizaron una inversión de 252M€ en innovación tecnológica. De éstas, el 28,23% eran empresas del sector de la industria alimentaria. Lógicamente estos datos son los oficiales, los que se extraen de la encuesta del INE, cumplimentadas en muchos casos sin mucha precisión o exactitud por empleados desconocedores en detalle de las cifras del negocio, y de lo realmente invertido en I+D+I.

En nuestra experiencia como agencia de desarrollo regional, hemos tenido la oportunidad de comprobar que en el sector agroalimentario existen más empresas innovadoras de las que reflejan las estadísticas oficiales. Los empresarios y sus colaboradores están continuamente mejorando procesos, diseñando nuevos productos, creando nuevos formatos de envases activos, desarrollando novedosos métodos que mejoran la maquinaria, reducen los consumos de materias primas, o eliminan mermas y productos defectuosos. Se trata de innovaciones incrementales que les permiten mantener su ventaja competitiva en mercados globales muy exigentes, con clientes saturados de oferta que eligen sólo aquellas que ofrece productos diferenciados a mejores precios, lo que sólo es posible innovando.

En ocasiones estas innovaciones las desarrollan en proyectos en colaboración con investigadores del CTC, del IMIDA, del CEBAS-CSIC, de Universidades, ó con técnicos de empresas proveedoras de tecnología. Este tipo de proyectos, para los que suelen solicitar ayudas públicas procedentes del INFO, de CDTI o de ENISA, son los que pasan a las estadísticas.

Pero otras muchas veces estas innovaciones son realizadas “in-house” por los propios técnicos de la empresa, que a base de experiencia y prueba-ensayo-error logran hacer desarrollos únicos que son la clave de su diferenciación y venta-

jas competitivas. Y este tipo de proyectos, que son más frecuentes que los anteriores, no pasan nunca a las estadísticas. Estas “invenciones” y desarrollos pasan totalmente desapercibidos, y son considerados por los empresarios y técnicos de las empresas como algo más que forma parte de su día a día. En el INFO podemos constatar impresionantes desarrollos tecnológicos realizados por extraordinarios industriales murcianos de empresas de alimentación, sin formación técnica pero con gran experiencia y conocimiento práctico. Empresas que innovan sin saberlo.

Lo que sería deseable es que el proceso por el cual estas empresas consiguen desarrollar invenciones de forma “espontánea” se lograra sistematizar, y contaran con una metodología formal para innovar conscientemente. Esto les permitiría estar continuamente innovando, lograrlo antes y con más éxito, aprovechando atajos en el camino: técnicas de creatividad, de generación de ideas, de resolución de problemas, de vigilancia tecnológica, círculos de innovación interna,... Y aprovechando los incentivos económicos y fiscales que tienen a su disposición por innovar.

Desde el INFO invitamos a todos aquellos que quieran conocer cómo se implanta un sistema de innovación o cómo se sistematiza la mejora de procesos y productos a que nos abran sus puertas. Nuestro compromiso es hacerlas más competitivas e innovadoras.

*Javier Celdrán Lorente*  
Jefe del Dpto. de Competitividad e Innovación Empresarial  
Instituto de Fomento de la Región de Murcia

## CTC alimentación

Puede usted visualizar esta publicación en formato electrónico-interactivo en su ordenador, tablet ó smartphone con:  
[www.ediciones-digitales.formato-sg.es/ctc\\_52/](http://www.ediciones-digitales.formato-sg.es/ctc_52/)



**CTC ALIMENTACIÓN**  
**REVISTA SOBRE AGROALIMENTACIÓN**  
**E INDUSTRIAS AFINES**

**Nº 53**

PERIODICIDAD TRIMESTRAL  
FECHA DE EDICIÓN: **DICIEMBRE 2012.**

**EDITA:** Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación  
Molina de Segura - Murcia - España  
telf. +34 968 38 90 11 / fax +34 968 61 34 01  
[www.ctnc.es](http://www.ctnc.es)  
**DIRECTOR:** LUIS DUSSAC MORENO  
[luis@ctnc.es](mailto:luis@ctnc.es)

# Contenidos

## ARTÍCULO

- 5** Influencia de la adición de calcio en la textura en la elaboración de confitura de melocotón de bajo contenido energético →



## ARTÍCULO

- 13** Valorización de lodos de depuradora de industrias de transformados vegetales mediante procesos de compostaje dirigido



## ARTÍCULO

- 23** Sterilisation and virus inactivation by Supercritical Fluids: A review



## NUESTRAS EMPRESAS

- 16** 90 Aniversario de Hero España



## NOTICIAS BREVES

- 36** Nuevo curso Better ProcessControl School BPCS 2012
- 36** Proyecto de formación en Calarasi (Rumania)
- 37** Carlos Herrera en las instalaciones de Hero España
- 37** The International Conference of the University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest

## VARIOS

- 38** Referencias Bibliográficas
- 39** Referencias Legislativas
- 40** Asociados

## CRÉDITOS

**COORDINACIÓN: OTRI CTC**  
 ÁNGEL MARTÍNEZ SANMARTÍN -  
 angel@ctnc.es  
 MARIAN PEDRERO TORRES - marian@ctnc.es  
**PERIODISTA:** JOSÉ IGNACIO BORGONÓS  
 MARTÍNEZ  
**CONSEJO EDITORIAL**  
 PRESIDENTE: JOSÉ GARCÍA GÓMEZ

PEDRO ABELLÁN BALLESTA.  
 JAVIER CELDRÁN LORENTE  
 FRANCISCO ARTÉS CALERO  
 LUIS MIGUEL AYUSO GARCÍA  
 ALBERTO BARBA NAVARRO  
 JAVIER CEGARRA PÁEZ  
 MANUEL HERNÁNDEZ CÓRDOBA  
 FRANCISCO PUERTA PUERTA

FRANCISCO SERRANO SÁNCHEZ  
 FRANCISCO TOMÁS BARBERÁN  
**TRADUCTORA**  
 MARÍA EVA MARTÍNEZ SANMARTÍN  
**EDICIÓN, SUSCRIPCIÓN Y PUBLICIDAD**  
 FRANCISCO GÁLVEZ CARAVACA  
 fgalvez@ctnc.es

**I.S.S.N.** 1577-5917  
**DEPÓSITO LEGAL:** MU-595-2001

El Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación no se hace responsable de los contenidos vertidos en los artículos de esta revista.



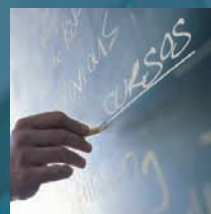
GESTIÓN DE PROCESOS INDUSTRIALES

SOLUCIONES E-BUSINESS



CONSULTORÍA ESTRATÉGICA

FORMACIÓN



# GRUPOFORO,

consultoría, gestión de la innovación y  
soluciones tecnológicas para su empresa



TELEMONITORIZACIÓN DE GESTIÓN  
INDUSTRIAL Y MEDIOAMBIENTAL



SOLUCIONES TECNOLÓGICAS PARA EMPRESAS DE TRANSPORTE Y MOVILIDAD

Paseo fotógrafo Verdú, 9, edif. Minos, bajo. Los Molinos del Río, 30002, Murcia Tlf. 968 22 55 11 Fax 968 22 31 83

EL OBJETIVO DE ESTE TRABAJO HA SIDO LA PREPARACIÓN DE CONFITURAS DE MELOCOTÓN DE CONTENIDO ENERGÉTICO REDUCIDO

# **INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE CALCIO EN LA TEXTURA EN LA ELABORACIÓN DE CONFITURA DE MELOCOTÓN DE BAJO CONTENIDO ENERGÉTICO**

---

ÁREA DE TECNOLOGÍA CTC



Hoy en día se impone el consumo de productos de reducido contenido calórico como fuente de salud y prevención de ciertas enfermedades, diabetes, obesidad, cardiovasculares y por motivos de estética, como mejora de la silueta. Esta moda ha invadido sectores que tradicionalmente han sido considerados como calóricos, como es el caso de las confituras. Por otro lado se estimula de forma creciente el consumo de alimentos ricos en frutas, vitaminas, sales minerales y otros nutrientes que pueden

mejorar el funcionamiento del aparato digestivo.

Aunando ambas tendencias está aumentando en el campo de las confituras la elaboración de productos muy ricos en fruta y con menor contenido de azúcar.

Actualmente la composición de estos productos se ha enriquecido sustancialmente de forma que ya no son componentes exclusivos la fruta y el azúcar, sino que hay que considerar la adición de pectinas comerciales específicas para cada confitura particular con

objeto de uniformar su textura, y ácidos orgánicos comestibles permitidos en alimentación para regular el pH. También otros ingredientes autorizados pueden añadirse opcionalmente al producto cuando las condiciones de preparación, envasado y consumo lo requieran.

Para la elaboración de confituras con un contenido de azúcares (sólidos solubles medidos por refractometría) por debajo del 60% (60° Brix), se utilizan pectinas de bajo grado de esterificación (pectinas de bajo

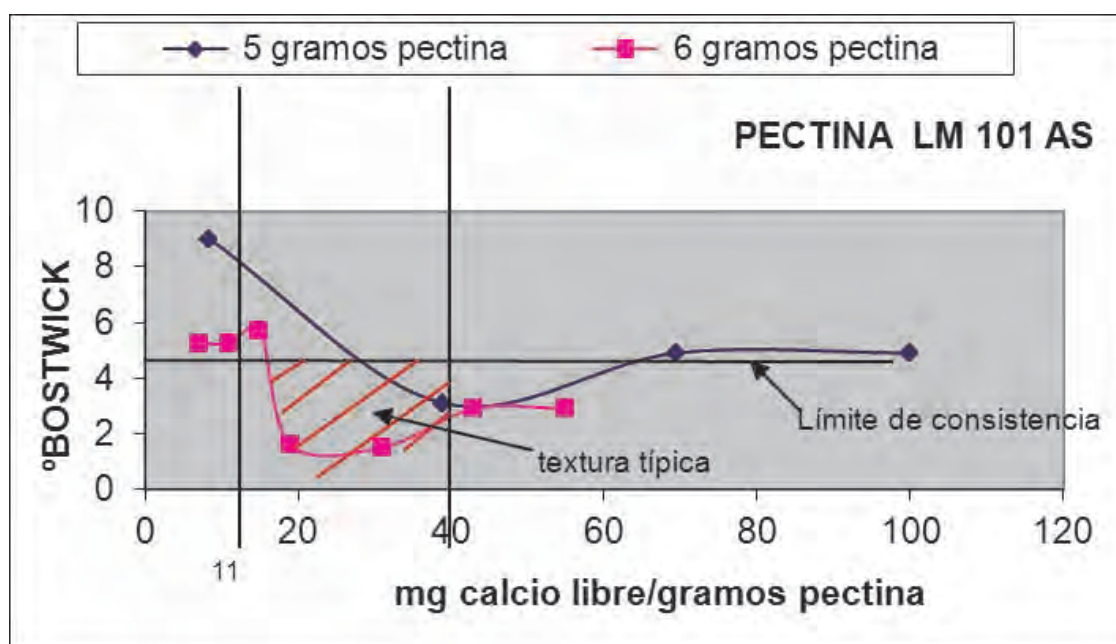


Figura 1. Variación de la consistencia (%Bostwick) de la pectina LM 101 AS en función de los mg de calcio libre/g de pectina, para distintos niveles de pectina añadidos por kg de confitura.

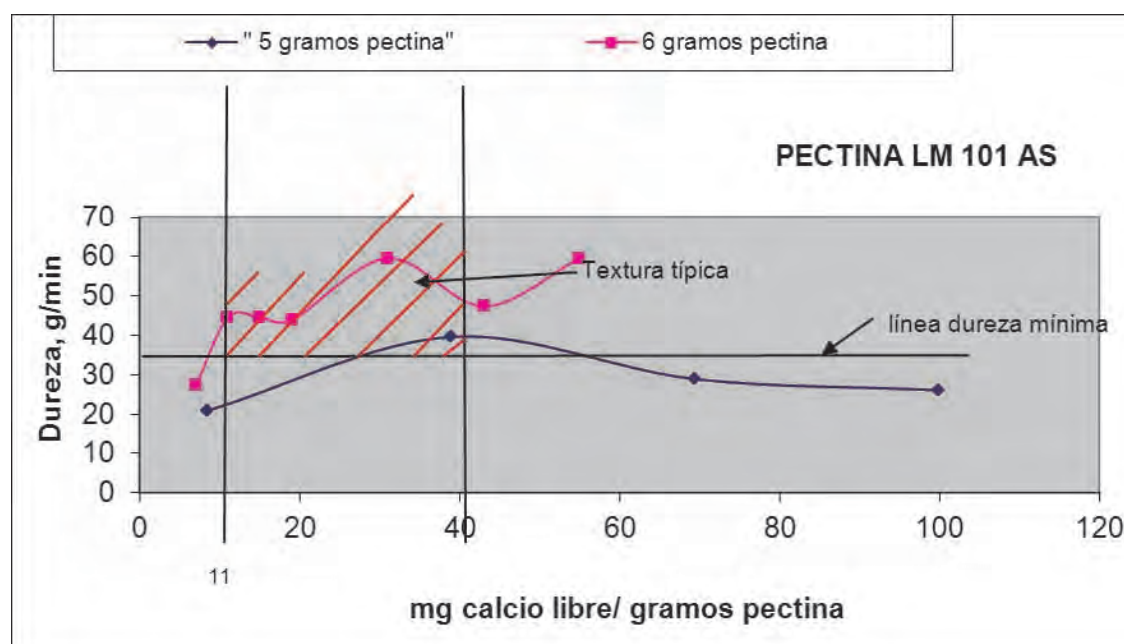


Figura 2. Variación de la dureza (g/min) de la pectina LM 101 AS en función de los mg de calcio libre/g de pectina, para distintos niveles de pectina añadidos por kg de confitura.

metoxilo -LM-). La presencia de calcio, si bien es necesaria para gelificar este tipo de pectina, en exceso puede influir negativamente en la textura y en su estabilidad (aparición de sinéresis). También es normal el enriquecimiento de calcio en diferentes tipos de alimentos proporcionándoles una acción funcional.

**Objetivo.** El objetivo de este trabajo ha sido la preparación de confituras de melocotón de contenido energético reducido

(50°Brix) y 50% de fruta, utilizando varias composiciones de 3 clases distintas de pectina de bajo metoxilo: Pectina amidada LM101AS, de baja reactividad al calcio, 35% grado de esterificación y 15% grado de amidación, pectina amidada OF305C, muy reactiva al calcio, 27% grado de esterificación y 21% grado de amidación, pectina convencional (no amidada) OF400, 30% grado de esterificación. Las formulaciones se han completado con la adición de dosis crecientes de calcio.

**Materiales y métodos.** Para cada una de las formulaciones de confituras de melocotón elaboradas con los tres tipos de pectinas y las diferentes dosis de calcio añadidas, se analizaron pH, acidez valorable, °Brix, calcio total, calcio libre, vacío, la textura (fuerza de penetración y consistencia Bostwick), el nivel sensorial de aceptación de textura como “típica” o “atípica” y otros atributos sensoriales como la aparición de sinéresis, que pone de manifiesto la incapacidad del gel para retener el agua. A ca-

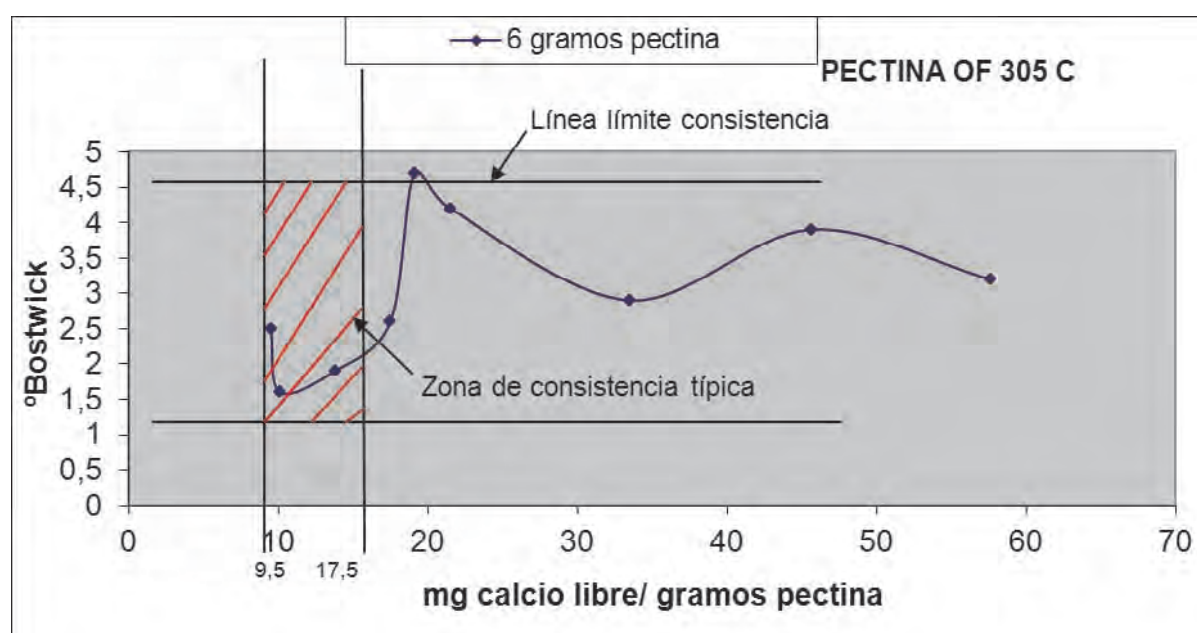


Figura 3. Variación de la consistencia (°Bostwick) de la pectina OF 305 C en función de los mg de calcio libre/g de pectina, para distintos niveles de pectina añadidos por kg de confitura.



da muestra elaborada se le realizó un test de estabilidad.

**Resultados.** Las gráficas siguientes, muestran cómo influye el contenido en calcio para distintas dosis y tipo de pectina en la textura de la confitura de melocotón, representando gráficamente los valores de dureza y consistencia en función del contenido en calcio, expresado en miligramos de calcio libre por gramo de pectina y se

anotan los defectos de textura observados. Para la construcción de las gráficas y curvas de textura, de las 55 muestras elaboradas, se han elegido los valores correspondientes a los máximos días transcurridos desde la fecha de elaboración a la fecha del último análisis realizado, por considerar que la confitura presenta una textura equilibrada.

La zona rayada en rojo en las gráficas, corresponde a las texturas “típica” de la confi-

tura que presentan nivel de dureza superior a 30 g/min, consistencia inferior a 4,0 °Bostwick, ausencia de fluidez y/o sinéresis.

**Conclusiones.** Los ensayos realizados permitieron concluir:

1. Se ha fijado el nivel de aceptación mínima de la textura de la confitura estudiada como “típica”, a una dureza de 30 gramos y consistencia Bostwick de 3,8-4 cm en 60 segundos, correspondiente a la de

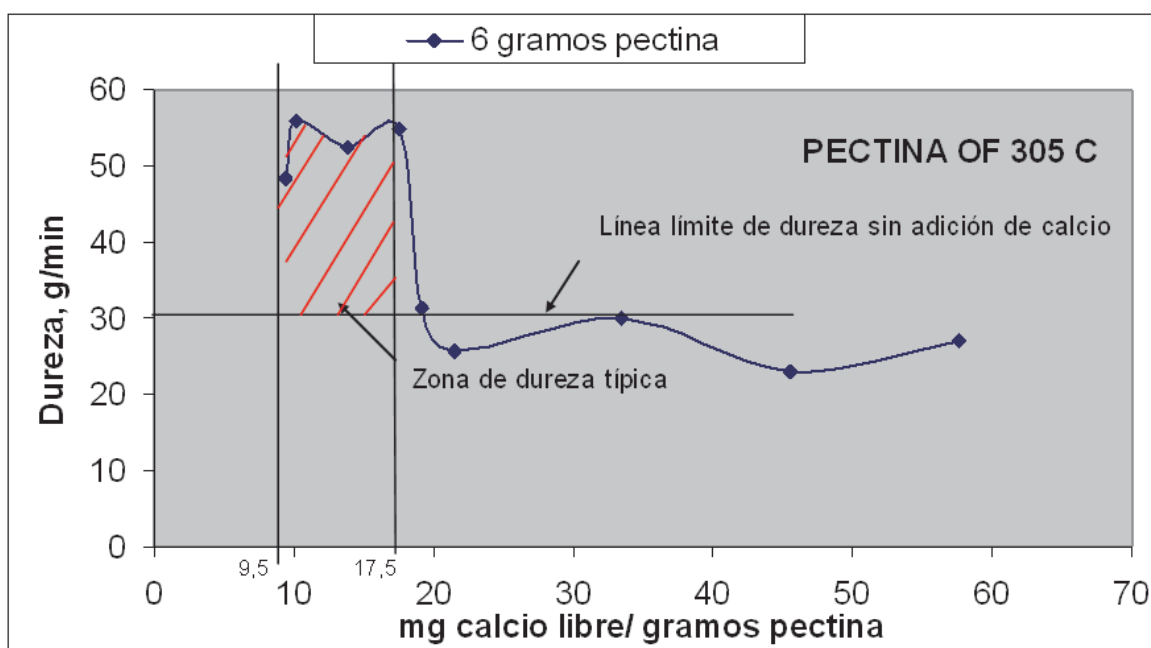


Figura 4. Variación de la dureza (g/min) de la pectina OF 305 C en función de los mg de calcio libre/g de pectina, para distintos niveles de pectina añadidos por kg de confitura.

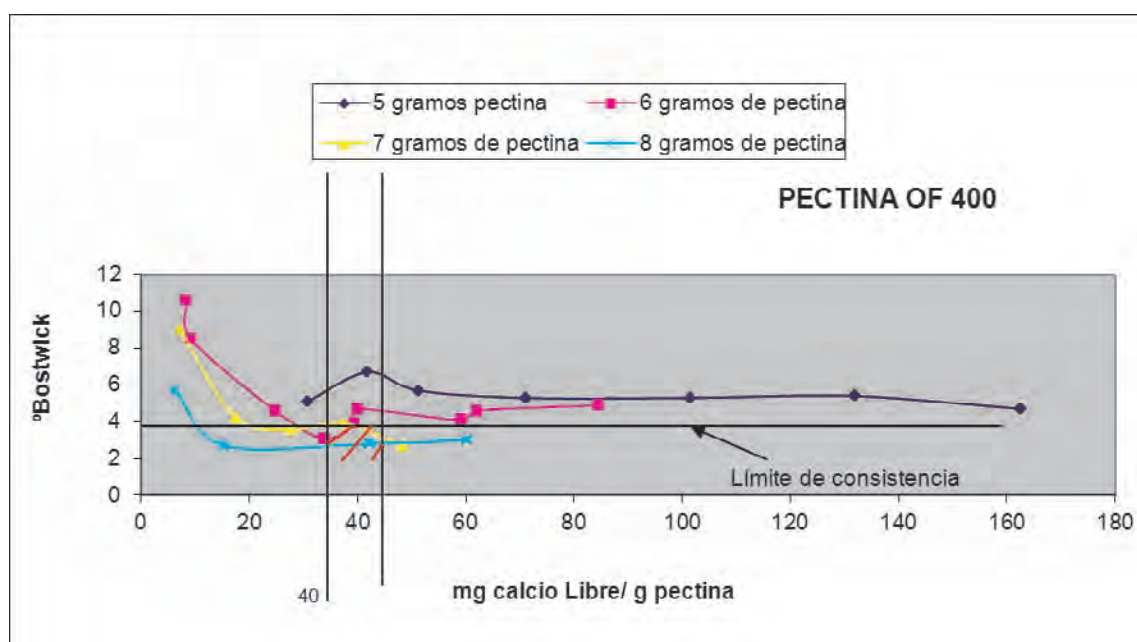


Figura 14. Variación de la consistencia (°Bostwick) de la pectina OF 400 en función de los mg de calcio libre/g de pectina, para distintos niveles de pectina añadidos por kg de confitura.

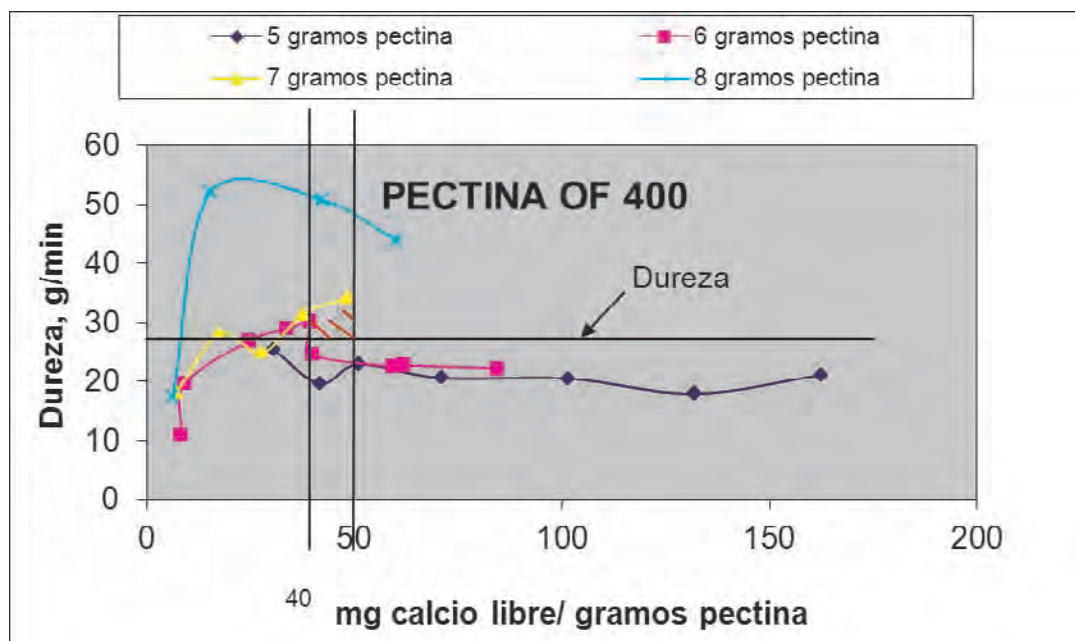


Figura 15. Variación de la dureza (g/min) de la pectina OF 400 en función de los mg de calcio libre/g de pectina, para distintos niveles de pectina añadidos por kg de confitura.



una confitura unttable (sin formar gel rígido), utilizando los valores obtenidos en las determinaciones instrumentales y corroborados por una valoración sensorial.

2. Se ha determinado para cada clase de pectina los niveles óptimos de contenido

de calcio, donde se produce una gelificación "típica" de la confitura, siendo las dosis mínimas de pectina: 5 gramos/kg de confitura para pectinas LM101AS y OF305C y 6 gramos/kg de confitura para pectina OF400.

3. Se ha establecido una curva de textura de confitura elaborada con distintas dosis de pectina OF305C (que podría extrapolarse a las otras clases de pectina), relacionando cada dosis de pectina con su dureza correspondiente, manteniendo, en to-



dos los casos, los niveles de contenido de calcio dentro del intervalo de gelificación “típica”. Resulta prácticamente una línea con una ligera pendiente positiva y que

podría predecir la cantidad de pectina a formular en la preparación de confituras para conseguir una textura determinada. 4. Se constata que el intervalo de conteni-

do de calcio para la obtención de una confitura de textura “típica” es más amplio en las pectinas LM amidadas que en la pectina no amidada.

# electromain

electrónica industrial

---

## Soluciones de principio a fin

En Electromain somos expertos en la automatización de la industria.

Contamos con un equipo humano compuesto por profesionales altamente cualificados.

Ofrecemos a nuestros clientes un servicio integral:

**Venta de material para la automatización industrial, Asesoramiento técnico y formación.**

Todo ello con la garantía de la mejor calidad, como lo asegura nuestra certificación ISO 9001.

## TODO EN AUTOMATISMO INDUSTRIAL

Distribuidor de:

**Central Murcia**  
 Polígono Industrial El Tapiado  
 C/ La Conserva, S/N • 30500 Molina de Segura (Murcia)  
 Telf. **968 389 005** • Fax 968 611 100  
[electromain@electromain.com](mailto:electromain@electromain.com)  
[www.electromain.com](http://www.electromain.com)

**Delegación Almería**  
 Parque Industrial El Real  
 C/ Mojana, 5 • 04628 Antas (Almería)  
 Telf. **950 393 188** • Fax 950 390 264  
[antas@electromain.com](mailto:antas@electromain.com)  
[www.electromain.com](http://www.electromain.com)



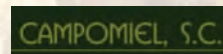
# Proyecto europeo APIFRESH



El proyecto de Investigación en Beneficio de las Asociaciones de PYMEs del programa específico de Capacidades del Séptimo Programa Marco de la UE "Developing European Standards for bee pollen and royal jelly: quality, safety and authenticity" con acrónimo APIFRESH, está coordinado por Tecnologías Avanzadas Inspiralia (España) y cuenta con los siguientes socios:

- **Asociaciones empresariales:** Asociación Europea de Apicultores Profesionales (EPBA) - Alemania/UE, Asociación Húngara de Apicultores (OMME) – Hungría, Federación Nacional de Apicultores de Portugal (FNAP) – Portugal y Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación (CTC) –España.
- **Empresas:** Campomiel –España, Balpamak –Turquía, Parque Tecnológico de Padano –Italia.
- **Centros de investigación:** Tecnologías Avanzadas Inspiralia –España, Centro Agrícola Regional de Marchamalo –España, y Centro de Investigación Tubitak Marmara de Turquía.

APIFRESH tiene como objetivo fundamental contribuir a la mejora de la competitividad de las empresas apícolas Europeas, representadas en el Consorcio a través algunas de las más importantes Asociaciones Nacionales y Europeas del sector, mediante el desarrollo de distintas líneas de e investigación para elevar el nivel de la seguridad alimentaria europea y promover el uso en el sector agroalimentario de componentes bioactivos y saludables procedentes de productos apícolas.



## VII Curso Internacional

con Título Universitario en

**TECNOLOGÍA  
POSTCOSECHA  
Y PROCESADO  
MÍNIMO**



7 al 13 de marzo de 2013  
Cartagena,  
Murcia, España

# The SATIN - SATiety INnovation Project

## Satiety Control through Food Structures made by Novel Processing



**A sandwich, a cereal snack, roast pork with dumplings or a bowl of spicy tapas?**  
**What foods accelerate satiety, suppress hunger, extend satiety within your meals and reduce appetite?**

Halford JCG (Department of Experimental Psychology, University of Liverpool, United Kingdom), Kellerhals M (Coca-Cola Services NV, Brussels, Belgium) Ibarra A (Naturex, Valencia, Spain), Blundell J, Finlayson G (University of Leeds, Leeds, UK)



### Aim

The SATIN consortium aims to develop novel food products for European consumers through processing innovation that will enhance satiety and help to achieve a balanced diet.

The multidisciplinary collaboration will develop food products that help regulate food intake by accelerating satiety during a meal, enhancing satiety and/or reducing appetite through novel processing methods and validate these products in human trials by examining key biomarkers, nutrient availability and behaviour.

### Background

Despite advances in the

- measurement of appetite expression and the biomarkers underpinning the processes of satiation and satiety,
- understanding of the impact of nutrient composition
- knowledge of the physical characteristics of food on eating behaviour

Few satiety-enhancing products have successfully remained in the European market, due to the failure of producing effective and appealing products.

### Objectives

- INTEGRATE ADVANCED TECHNOLOGIES** to screen novel food structures through in vitro models to isolate and refine products according to their satiating potential.
- DEVELOP NOVEL FOOD PROCESSING TECHNOLOGIES** that combine active ingredients and changes in food structure to produce a range of novel satiety enhancing ingredients.
- PRODUCE FINISHED FOOD PRODUCTS** that pass through safety analysis, early sensory evaluation and consumer testing.
- DEMONSTRATE THE EFFECTS OF PROTOTYPE PRODUCTS** on biomarkers of satiety and on nutrient bioavailability using in vivo studies and validating new in vivo approaches.
- ELABORATE THE EFFECTS OF FINAL FOOD PRODUCTS** on within-meal satiation, post-meal satiety and/or reduced appetite using biomarkers of satiety.
- DEMONSTRATE THE SHOOTING EFFECTS OF INDIVIDUAL FOOD PRODUCTS** on satiety and their potential to balance weight loss.
- DEMONSTRATE THE LONG-TERM CONSUMER AND HEALTH BENEFITS** of adhering to a diet containing satiety-enhancing products.
- VALIDATE HEALTH CLAIMS, NUTRITION AND COMMERCIAL USE.**

#### WP1 SELECTION OF IMPROVED SATIATING FOOD COMPONENTS BY IN VITRO SATIETY

WP1 will develop and validate new in vitro gastro-intestinal models that screen satiety responses to novel ingredients, refine prototype food structures, and screen nutrient bioavailability to select product development. The work package developed will comprise two fundamental components:

- an artificial, dynamic gastro-intestinal model which simulates the different anatomical regions and assesses evaluation of the maximal rate of food ingredients and their breakdown of metabolic processes which may alter their biological activity profile.
- a set of functional in vitro assays that can be used on automated screening platforms, for the detection of interactions between food components and gastro-intestinal components and their potential to modulate satiety pathways.



#### WP2 SENSORY FACTORS AND FOOD STRUCTURES IN SATIATION AND SATIETY

This WP will develop novel food processing technologies combining optimal food structures and flavours with active ingredients that are able to enhance satiety/satiety.

We will develop food products using novel processing techniques. Resulting modified existing whole foods will be assessed for their satiation and early satiety potential. In addition, various products will be formulated to include potentially active satiety components as assessed in WP1 and WP5.

#### WP3 MICROBIOTA, GUT FUNCTION AND BIOMARKERS OF APPETITE AND RELATED HEALTH CLAIMS

The aim of this WP is to develop food components within the gut, which can influence gut health and appetite.

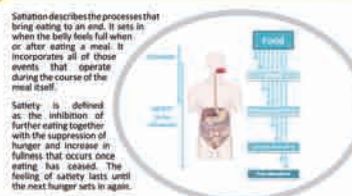
Food components that are known to be important to the gut and the gut microbiome include: fibre, polyphenols, and other bioactive compounds. These components can influence the gut microbiome and gut health, which in turn can influence appetite and related health claims.



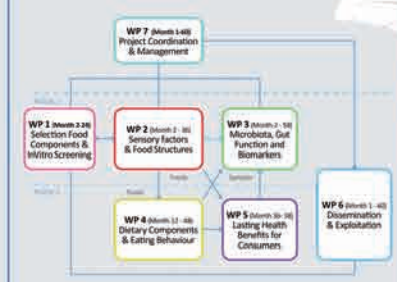
#### WP4 VALIDATION OF SATIATING DIETARY COMPONENTS ON SHORT- AND MEDIUM-TERM EATING BEHAVIOUR

WP4 will develop and validate food components and food structures that are able to enhance satiety/satiety.

A series of in vitro, in vivo, and in vivo studies will be conducted to assess the effects of food components on the mechanisms of satiety. The studies will assess the effects of food components on the mechanisms of satiety, including the effects of food components on the mechanisms of satiety, including the effects of food components on the mechanisms of satiety.



#### WORK PACKAGE INTERRELATION



#### WP5 LASTING HEALTH BENEFITS FOR CONSUMERS

The purpose of generating satiety-enhancing processed food products is to help consumers achieve a balanced diet resulting in long-term beneficial effects in body weight and health. Large-scale clinical trials are required to demonstrate that changes in food structure can modify the mechanisms involved in the regulation of total energy intake, beneficially affecting energy balance and body weight regulation.

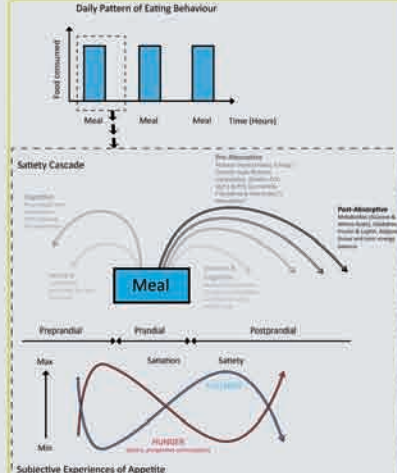
The proof of concept study in WP5 will be conducted in line with EFSA's Draft Scientific Opinion on the scientific requirements for health claims related to appetite ratings and weight management.

#### WP6 DISSEMINATION AND EXPLOITATION

The SATIN project will be disseminated to industry and to the scientific community. The four main dissemination groups are:

- Academy and industry stakeholders including EFSA
- Policy Makers and Regulators
- Food and Beverage Industry
- Consumers and End-users

The project will generate a number of outputs and will be disseminated through a number of channels.



Contact: Coordinator, Project Manager: University of Liverpool, [satin@liverpool.ac.uk](mailto:satin@liverpool.ac.uk)  
 Content and Layout: Dissemination Management, RTD Services Vienna, [satin@rtid-services.com](mailto:satin@rtid-services.com)  
 Picture Credits: © John Blundell / Graham Finlayson (Satiety Cascade)  
 The SATIN consortium consists of seven SME (Axiom, BioActor, CTAEX, CTC, NZD, RTD Services and ProDigest), four industry (Cargill, Coca-Cola, Juver and Naturex) and seven academic (Universities of Aberdeen, Copenhagen, Leeds, Liverpool, Murcia, Rovira i Virgili, and the Karolinska Institutet) partners. The project is co-ordinated by the University of Liverpool ([g.bullock@liverpool.ac.uk](mailto:g.bullock@liverpool.ac.uk)).



# VALORIZACIÓN DE LODOS DE DEPURADORA DE INDUSTRIAS DE TRANSFORMADOS VEGETALES MEDIANTE PROCESOS DE COMPOSTAJE DIRIGIDO



A LO LARGO DE LOS TRES ÚLTIMOS AÑOS EL CENTRO TECNOLÓGICO NACIONAL DE LA CONSERVA Y LA ALIMENTACIÓN CON LA COLABORACIÓN DEL CEBAS-CSIC Y CON EL APOYO DE LA FUNDACIÓN SÉNECA-AGENCIA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LA REGIÓN DE MURCIA, HA LLEVADO A CABO UN PROYECTO QUE PRETENDE SERVIR PARA MEJORAR LA GESTIÓN DE LOS LODOS DE DEPURADORA DE LA INDUSTRIA DE LOS TRANSFORMADOS VEGETALES MEDIANTE PROCESOS DE VALORIZACIÓN. MÁS CONCRETAMENTE SE HAN DESARROLLADO PROCESOS DE COMPOSTAJE ORIENTADOS A LA OBTENCIÓN DE COMPOST FUNCIONALES

**L**os compost funcionales son compost con valor añadido y con propiedades específicas que los hacen más eficaces desde el punto de vista agrícola o en otras actividades agrícolas actuando como substratos. Este proceso de compostaje se conoce como compostaje dirigido.

En definitiva, "dirigido" implica un compostaje a la carta utilizando en el que se utiliza lodo, en nuestro caso de la industria agroalimentaria, mezclado con agentes cocompostantes tales como son los propios restos vegetales de estas industrias, residuos vitivinícolas y restos de cosecha, etc, etc,... que pueden ser precursores de un componente funcional valorizable que potencie la capacidad biopesticida, biofertilizante y/o bioestimulante del compost final obtenido; es decir, se ha buscado obtener un producto con valor añadido.

Además, se ha buscado contribuir a eliminar las afecciones ambientales provocadas por la actual gestión de los lodos de depuradora, que en muchos casos es su depósito en vertederos, actuación que no tiene en consideración la posibilidad de obtener coproductos con valor añadido, y crear oportunidades tecnológicas y económicas para las empresas.

Aunque existen muchas definiciones sobre el compostaje, la que se considera más propia en el ámbito agronómico es la establecida por Zucconi y De Bertoldi (1986), según los cuales el compostaje es un proceso biooxidativo controlado, en el que intervienen numerosos microorganismos, que incluye un sustrato orgánico heterogéneo en estado sólido, que evoluciona pasando a través de una fase termofílica y una liberación temporal de fitotoxinas, dando lugar a la producción de CO<sub>2</sub>, agua, minerales y materia orgánica estabilizada denominada "compost". Del mismo modo, el compost es el producto estabilizado e higienizado del compostaje que ha sufrido una fase

inicial y rápida de descomposición y se encuentra en proceso de humificación, el cual es beneficioso para el crecimiento de las plantas.

Ahora bien, las características del compost dependen de las materias primas y del proceso de compostaje, presentando variaciones entre plantas de compostaje e incluso dentro de la misma planta según la época del año. Aunque en la actualidad se asocia frecuentemente el compostaje con la gestión de la materia orgánica procedente de los residuos sólidos urbanos (RSU), diversas materias orgánicas biodegradables pueden ser compostadas, tales como lodos de depuradora, restos vegetales provenientes de poda, estiércoles y purines, residuos de la industria agroalimentaria, residuos forestales, etc siendo interesantes aquellos productos orgánicos biodegradables que se producen en gran cantidad y dan lugar a problemas de manejo o eliminación. En ocasiones las materias brutas no presentan separadamente las características idóneas, pero pueden combinarse para obtener mezclas adecuadas para el compostaje de tal forma "que no falte de nada y todo esté en la adecuada proporción".

Si bien es cierto que el proceso de compostaje está muy estudiado, son muchas las posibilidades de mejoras del proceso, fundamentalmente respecto a los materiales de partida y la manipulación del proceso con el objeto de la obtención de compost a la "carta" en función del destino buscado para el producto final, lo que apoya el desarrollo de este proyecto.

El objetivo del proyecto ha sido la evaluación de experiencias de compostaje para obtener compost funcionales donde se identifiquen precursores que aporten un componente funcional valorizable.

El trabajo ha constado de dos fases diferenciadas:

- Contacto con las empresas del sector para disponer de información concreta de la problemática en cuanto a cantidad de lodos que se generan en sus sistemas de depuración y para poner en su conocimiento la posibilidad de desarrollar acciones de valorización de sus residuos.
- Trabajo de laboratorio y campo para llevar a cabo actuaciones de interés y obtener resultados que puedan ser trasladados a técnicos del sector.

La primera tarea consistió en la cuantificación de los lodos de depuración que se gestionan en las empresas del sector de transformados vegetales de nuestra Región (conservas, zumos y congelados) y para ello se mantuvieron conversaciones con técnicos de las empresas y se realizaron visitas a las propias plantas de depuración industriales, toma de muestras y análisis de los mismos. Como resultado de este trabajo podemos destacar que la industria de transformados vegetales de la Región de Murcia genera entre 25000 y 40000 Tm/año de lodos de depuradora y se pone de manifiesto la validez, y aún más, la excelencia de los lodos generados por el sector de transformados vegetales para su valorización agrícola mediante un proceso de compostaje, habida cuenta de las buenas características, físico-químicas, microbiológicas y ausencia de sustancias orgánicas contaminantes y/o de metales pesados. La segunda tarea consistió en diseñar y desarrollar experiencias de compostaje a escala piloto. El diseño de las experiencias se planificó en base a tres líneas de actuación para lograr un producto final con características funcionales: mejora estructural del compost (utilizando diversos ingredientes y con distinta granulometría); mejora nutricional del compost (utilizando ingredientes cocompostantes que mejoren "in situ" la calidad nutricional del compost y adición de nutrientes externos); y mejora en la estabilidad del compost (utilizando ingredien-

tes ya estabilizados, como compost maduro en varias proporciones).

El proyecto incluía la identificación de aquellos factores abióticos y bióticos que aportan al compost de lodo efecto biofertilizante, biopesticida y bioestimulante, según los diferentes agentes cocompostantes utilizados, diferencias estructurales (granulometría de los materiales y su porosidad) y de manejo de la pila de compostaje (tiempo de compostaje, nº de volteos, etc.). Para ello se plantearon experimentos in vitro y en invernadero.

En resumen, de todas las experiencias desarrolladas y de acuerdo con los resultados alcanzados, se puede decir que los compost obtenidos de lodos procedentes de industrias de transformados vegetales y restos vegetales de esta industria aseguran un contenido nutricional interesante, una calidad agronómica adecuada y están exentos

de compuestos de naturaleza tóxica. Incluso se pueden considerar como aptos para cultivos agrícolas ecológicos en cuanto a calidad agronómica y asegurar los criterios de calidad establecidos en la Clase A en el R.D. 824/2005. Y que además, mediante las adecuadas mezclas iniciales y cambios operacionales se puede dirigir el proceso a la obtención de compost con características funcionales. Además, los resultados obtenidos demuestran que el uso de lodos de depuradora conjuntamente con agentes cocompostantes de la propia industria de transformados vegetales, que a priori presentan interesantes características y potencialidades en cuanto a compuestos activos (polifenoles, etc.) aportan funcionalidad al compost final obtenido.

**Agradecimientos.** Gracias a la Fundación Séneca-Agencia de Ciencia y Tecnolo-

gía de la Región de Murcia, y a la Consejería de Educación, Formación y Empleo, a través del Servicio Regional de Empleo y Formación, como organismo financiador, por la beca concedida dentro del programa Becas Asociadas a la Realización de Proyectos de I+D, Innovación y Transferencia de Tecnología, en la modalidad cooperativa entre Centros de investigación y Centros Tecnológicos de la Región de Murcia, años 2009-2012.

Proyecto desarrollado por Ana Belén Morales Moreno, en Área de Medioambiente - CTC



## “SU EMPRESA DE INSTRUMENTACIÓN” TECNOQUIM, S.L.

**Polígono Industrial Oeste.**  
Avda. Principal, P. 29/28  
30169 MURCIA (SPAIN)  
Tel. 968 880 298 - Fax 968 880 417  
[ventas@tecnoquim.es](mailto:ventas@tecnoquim.es)  
[www.tecnoquim.es](http://www.tecnoquim.es)



MEDIDORES  
MULTIPARAMÉTRICOS

FOTÓMETRO ENSAYO  
DQ0+TERMORREACTOR

CONDUCTÍMETROS  
PHMETROS. O2 DISUEL

TURBIDÍMETROS  
CLORÍMETROS



**PROCESO: PCA ANALIZADORES AUTOMÁTICOS Y CONTROL DE pH, CLORO LIBRE/TOTAL, Tª y ORP EN CONTINUO**

### SOLICITEN INFORMACIÓN Y PRESUPUESTO DE:

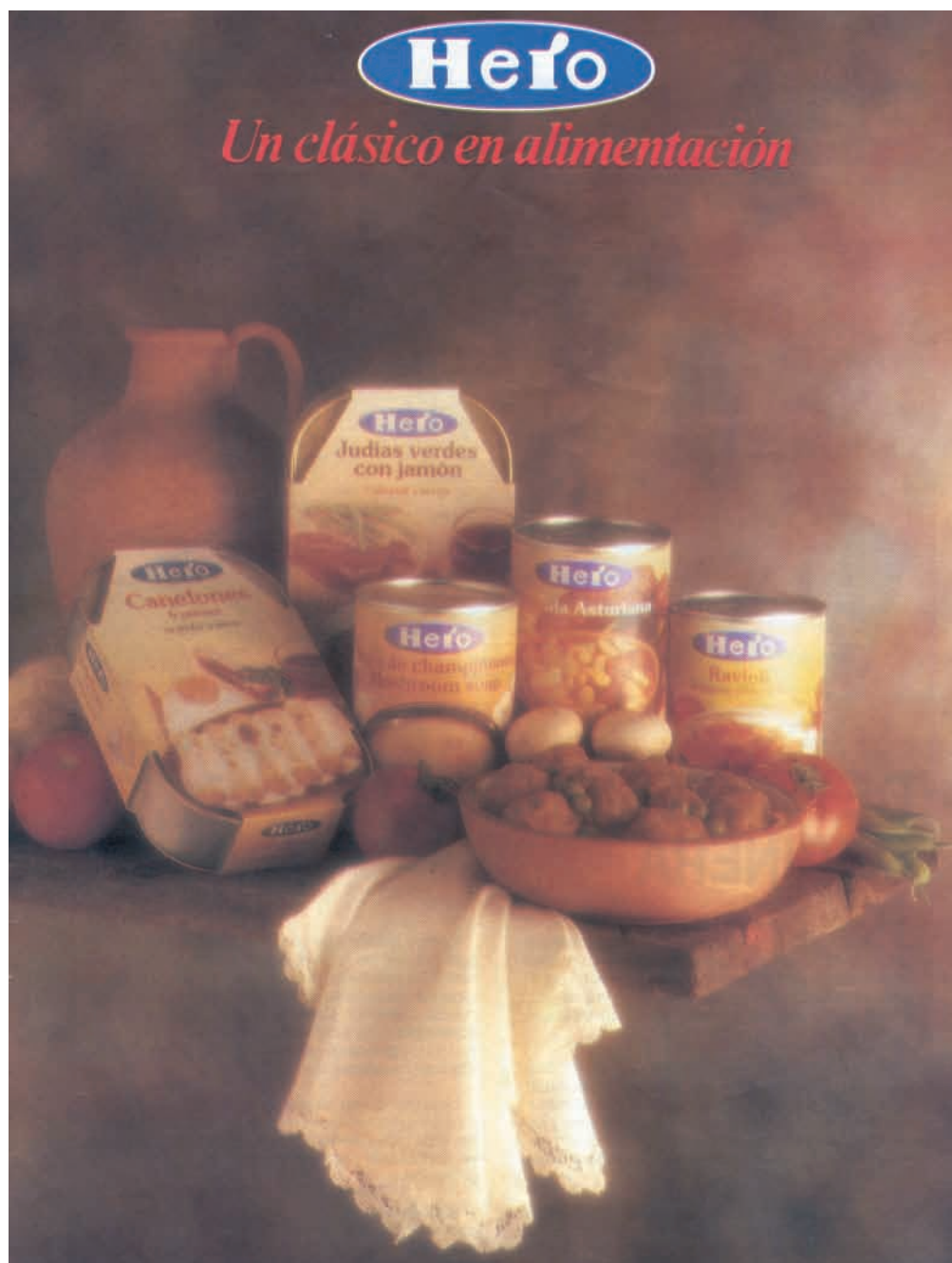
Autoclaves / Agitadores magnéticos / Balanzas / Baños termostáticos / Calibraciones / Cabinas flujo laminar / Cromatógrafos CG y HPLC / Espectrómetros VIS-UV-A.A. / Estufas / Fibra / Grasa / IRTF / Microscópios / Mobiliario

**Delegación:** Polígono Industrial. Campollano. Calle D, 57, Nave 9. 02007 ALBACETE

Tlf.: 967609860 / Fax: 968880417 / [albacete@tecnoquim.es](mailto:albacete@tecnoquim.es)



# 90 ANIVERSARIO DE HERO ESPAÑA



EN 1885 SE FUNDA LA CASA MATRIZ HERO LENZBURG EN SUIZA, QUE HOY EN DÍA SIGUE SIENDO LA SEDE CENTRAL DEL GRUPO HERO. ES EN 1910 CUANDO LA MARCA ADQUIERE SU ACTUAL NOMBRE DERIVADO DE LOS APELLIDOS DE LOS SOCIOS FUNDADORES, LOS SEÑORES HENCKELL Y ROTH. NO ES HASTA 1922 CUANDO SE CONSTITUYE HERO ALCANTARILLA, EN MURCIA, SIENDO SU ACTIVIDAD PRINCIPAL TRANSFORMAR LA MATERIA PRIMA PROCEDENTE DE LA HUERTA DE MURCIA PARA ABASTECER A LAS EMPRESAS DEL GRUPO. YA EN 1930 HERO ALCANTARILLA DECIDE COMERCIALIZAR EN EL MERCADO ESPAÑOL PRODUCTOS BAJO LA MARCA HERO, PRINCIPALMENTE CONFITURAS Y ALMÍBARES. A PARTIR DE ESE MOMENTO, LA GAMA DE PRODUCTOS FABRICADOS EN ESPAÑA SE DIVERSIFICA, COMENZANDO A ELABORAR DESDE PLATOS PRECOCINADOS HASTA PRODUCTOS SIN AZÚCAR NI FRUCTOSA AÑADIDOS Y PASANDO LA FILIAL A DENOMINARSE HERO ESPAÑA.

El gran hito es en 1985, cuando Hero España lanza la primera gama de Alimentación Infantil en el canal de alimentación, hasta entonces de venta exclusiva en farmacias. Desde ese momento, continúa creciendo la gama de referencias y productos fabricados: zumos, barritas energéticas, leches infantiles, papillas líquidas, y hasta más de 400 referencias que se comercializan hoy en día. Este crecimiento, siempre ha ido avalado por certificaciones emitidas por organismos de normalización. Tras la implantación del Mercado Único en España, Hero fue la primera empresa española de alimentación sólida que obtiene el Certificado de Calidad ISO 9001 otorgado por AENOR (fecha). Dicha certificación, ha ido seguida de otras tan diversas como el Certificado de Gestión Medioambiental ISO 14001, BRC ó IFS, entre otras. En 1995 Hero entra a formar parte del Holding Dr. Arend Oetker. Y desde ese momento, adquisiciones de diversas Marcas de Nutrición Infantil de todo el mundo han ido sucediéndose



hasta la actualidad. En 2012 Hero España cumple 90 años. A lo largo de este tiempo ha pasado de ser una empresa de conservas y alimentación tradicional a una Compañía de Nutrición Avanzada, orientada a la Investigación, el Desarrollo y la Innovación. Ha recibido diversidad de Premios y Reco-

nocimientos, en áreas de Responsabilidad Social Empresarial, Calidad y así como Éxitos Comerciales. Hero España es, además, referente dentro del Grupo en materia de Investigación y Desarrollo, disponiendo en sus instalaciones del Centro Internacional de Tecnología en Nutrición Infantil.

## “SU EMPRESA DE INSTRUMENTACIÓN”



# TECNOQUIM, S.L.

Pol. Ind. Oeste. Avda. Principal, P. 29/28 – 30169 MURCIA Tel. 968 880 298 - Fax 968 880 417

[ventas@tecnoquim.es](mailto:ventas@tecnoquim.es)

[www.tecnoquim.es](http://www.tecnoquim.es)



**Gomensoro**  
instrumentación científica



**Distribuidor Autorizado para Murcia y Albacete:**

| METROHM                                        | ATAGO                          | BAC-TRAC                                 | MILESTONE                                        |
|------------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| VALORADORES AUTOMÁTICOS<br>CROMATOGRFÍA IÓNICA | REFRACTÓMETROS<br>POLARÍMETROS | EQUIPOS MICROBIOLÓGICOS<br>DE IMPEDANCIA | EQUIPOS DIGESTIÓN<br>Y EXTRACCIÓN POR MICROONDAS |



### SOLICITEN INFORMACIÓN Y PRESUPUESTO DE:

Autoclaves / Agitadores magnéticos / Balanzas / Baños termostáticos / Calibraciones / Conductímetros  
Cromatógrafos de gases y líquidos / Espectrofotómetros VIS-UV y A.A. / Estufas / Fibras / Grasa / IRTF  
Lupas / Microscopios / Mobiliario / Molinos / Patrones certificados / PH-metros...

**Delegación:** Polígono Industrial. Campollano. Calle D, Parc. 57, Nave 9. 02007 ALBACETE  
Tlf.: 967609860 / Fax: 968880417 / [albacete@tecnoquim.es](mailto:albacete@tecnoquim.es) / [www.tecnoquim.es](http://www.tecnoquim.es)



# INFORMACIÓN PROYECTO

## ESTRATEGIAS SOSTENIBLES PARA UN MANEJO INTEGRAL DE LOS RESIDUOS Y SUBPRODUCTOS ORGÁNICOS DE LA INDUSTRIA AGROALIMENTARIA



### ¿QUÉ ES?



Un proyecto europeo dentro del programa LIFE+ cuyo objetivo es orientar a las empresas agroalimentarias para dar una salida económicamente rentable y medioambientalmente sostenible a los residuos y subproductos orgánicos que generan.



*¿Cómo puede beneficiarme de esta oportunidad?*

Visitando [www.agrowaste.eu](http://www.agrowaste.eu) y registrándote pinchando en el botón



- § Información completa del proyecto
- § Noticias interesantes relacionadas con el proyecto
- § Acceso a la base de datos de los residuos orgánicos, así como de las tecnologías más adecuadas para poner en valor dichos residuos. (Enero 2013).
- § Sistema de Decisión Inteligente (SDI), que da idea de las mejores salidas para poner en valor los residuos. (Enero 2013)
- § Información actualizada y continua



### ¿Quiénes participan en el proyecto?



Centro de Edafología y biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC). Dpto. conservación de suelos y Agua y Manejo de Residuos Orgánicos

**Contacto:**

Dra. Margarita Ros [margarita.ros@cebas.csic.es](mailto:margarita.ros@cebas.csic.es)  
Dr. Jose Antonio Pascual [jpascual@cebas.csic.es](mailto:jpascual@cebas.csic.es)



Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación

**Contacto:**

Dr. Miguel Ayuso [ayuso@ctnc.es](mailto:ayuso@ctnc.es)  
D. Luis Dussac [luis@ctnc.es](mailto:luis@ctnc.es)



Agrupación de Conserveros y Empresas de Alimentación de Murcia, Alicante y Albacete

**Contacto:**

D. Jose Carlos Solera [carlos.solera@agrupal.com](mailto:carlos.solera@agrupal.com)  
D. Jose Ramon Miralles [jrmiralles@agrupal.com](mailto:jrmiralles@agrupal.com)

*Estamos a vuestra disposición para cualquier consulta*

Presentación del SDI

Acciones de demostración

**Para 2013...**

Biogás  
Compostaje

Ensayos en semillero y campo

Obtención de compuestos de interés

DEMOS en la página web

Visitas guiadas a las zonas de experimentación

# Congreso Internacional de Polen en Madrid del 17 al 20 de Septiembre 2013 - APLE-APLF

POLLEN BIOTECHNOLOGY, DIVERSITY AND FUNCTION IN A CHANGING ENVIRONMENT



Las Asociaciones Española y Francesa de Palinología anuncian su 2º Congreso Internacional Conjunto APLE-APLF que tendrá lugar en Madrid, del 17 al 20 de Septiembre de 2013, bajo el tema general "Biotecnología, Diversidad y Función del Polen en un Medioambiente en Cambio Global", en que se presentarán las últimas novedades en investigación en las áreas más relevantes de la palinología.

Entre otros temas, se celebrará una sesión temática sobre "Polinización, productos y patologías apícolas para ecosistemas sostenibles" y un Workshop sobre "Nuevos Avances Metodológicos en Investigación Palinológica", participando como "Speakers" invitados científicos nacionales e internacionales de reconocido prestigio. En el congreso se discutirán problemáticas del análisis polínico de mieles y productos apícolas, certificación y estrategias en enfermedades apícolas. Se ha organizado un atractivo programa científico que se articulará en 3 Conferencias Plenarias, 8 sesiones orales y de pósters, con 1-2 Ponencias invitadas cada sesión. Se enfoca hacia temáticas de interés en sectores productivos como el sector apícola (miel, polen y abejas), y de Segu-

ridad alimentaria y certificación (estrategias con análisis polínico).

El encuentro, organizado por palinólogos del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y de la Universidad Complutense de Madrid (UCM), se celebrará en el campus central del CSIC en Madrid, en el histórico Edificio Central del CSIC en la calle Serrano 113.

## SEDE DEL CONGRESO

La sede del congreso es el Edificio Central del CSIC (Consejo Superior de Investigaciones Científicas) en Madrid, situado en el campus del CSIC de la calle Serrano 117. Las Conferencias y las Sesiones se celebrarán en el auditorio del edificio central.

El lugar está muy bien comunicado y es de fácil acceso en transporte público, tanto en metro (estación de República Argentina de la línea 6 de metro) como en autobús (parada de varias líneas de la EMT en Serrano, muy cerca del campus CSIC).

Las comidas durante los días completos del Congreso se ofrecerán en el comedor del CSIC situado en la calle Serrano 150 (a 7 minutos a pie del edificio central del congreso).

A partir del 1 de Febrero se abre el plazo de Inscripción y Envío de Resúmenes.

Más información en la Web: [www.pollen2013.com](http://www.pollen2013.com)



## Welcome to SATINews!

Welcome to the first issue of SATINews, the bi-annual newsletter of the FP7 funded project SATIN – SATiety INnovation. Obesity is a major public health issue facing the European Union and reducing it is a priority for all European governments. Satiety-enhanced foods can help with energy intake and weight control. The €6m funded SATIN project aims to produce new food products using the latest processing innovation techniques to accelerate satiation, enhance satiety and to reduce appetite.

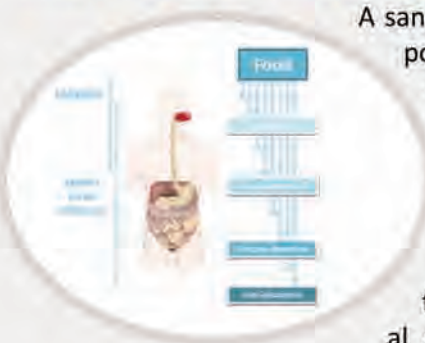
Get informed about research progress, researchers' opinions, training seminars and upcoming events in this exciting five year project and subscribe to the online newsletter on [www.satin-satiety.eu](http://www.satin-satiety.eu). This issue provides a project overview and results of the kick-off meeting which took place in Liverpool at the end of March 2012.

*Jason C. Halford*  
Jason C. Halford

Project Coordinator and Director of the Human Ingestive Behaviour Laboratory at the University of Liverpool



## The Project – New Approaches to Tackle Obesity



A sandwich, a cereal snack, roast pork with dumplings or a bowl of spicy tapas? What foods accelerate satiation i.e. suppress hunger and extend satiety i.e. time until hunger sets in again. To what extent do flavour, texture and even the visual appeal of food contribute to the feeling of being "full"? How

much can eating satisfaction be attributed from physiological properties and how much is perceptive?

European experts from food and beverage industry and academia were drawn together to exploit a better understanding of the biological processes in the gastrointestinal tract and the brain that underpin the feeling of satiety to tackle the challenges

of weight management and obesity. A research programme comprising food and appetite psychology, laboratory modeling of human digestion as well as human intervention trials will consider country specific diets, eating behaviour and taste. The overall objective of SATIN is to use novel food processing technologies to alter the structure of foods to accelerate satiation, enhance satiety and to reduce appetite.

Successful weight loss and maintenance is difficult. Obese and overweight people are less likely to feel full after eating, partly because of the energy-dense foods they prefer have a reduced impact on gastrointestinal hormone signals that help promote feelings of satisfaction and fullness. Satiety-enhanced foods can help with energy intake and weight control. The SATIN project aims to produce new food products using the latest processing innovation techniques and specific ingredients. The project will evaluate whether this approach is a viable weight management tool.

## The Kick-Off Meeting - Consensus over Research Approach

While each research work package contribution has its own unique selling point (USP), it is the combination of the different parts which defines SATIN's progress beyond the state of the art - Michele Kellerhals, Functional Ingredients Director from Coca Cola Europe underlines at the kick-off meeting in Liverpool (March 29-30). Sketching the Satiety Cascade on a flip chart in the kick-off meeting room, Kellerhals and Prof. John Blundell from the University of Leeds also express their confidence in the project's concepts and their satisfaction with progress in

the initial project months. This will be furthered by knowledge exchange events designed to bridge the gap between phase 1 and phase 2. To date research has concentrated on changes to structure likely to enhance within-meal-satiation, and produce transient rather than sustained post-meal satiety. SATIN will target key nutrient sensing mechanisms to develop food products through novel processing in differing categories to optimize consumer choice and produce enduring effects on appetite.

## The Consortium - Well-balanced but industry-driven

The SATIN project, coordinated by the University of Liverpool, is a multidisciplinary and well-balanced collaboration of researchers in food processing, nutrition, and consumer science with food producing enterprises. Driving forces such as Coca Cola, Cargill and others are crucial partners with high impact on the future commercialization of the research results. The strong SME participation in

the project will help contribute to the realisation of benefits to said SMEs by enhancing innovation capacity in the field of novel processing and ensuring the broad application of these relevant to the food industry thereby bringing improvements in the competitiveness of the European food industry.



## Partners:

### Research and Technology Institutions:

The University Court of the University of Aberdeen, UK (UNIABN); Kobenhavns Universitaet, DK (UCPH); University of Leeds, UK (UNILEEDS); University of Liverpool, UK (UNILIV); Universidad de Murcia, ES (UMUR); Universitat Rovira I Virgili, ES (URV); Karolinska Institutet, SE (KI)

### Industry:

Cargill Haubourdin SAS, FR (CARG); Coca-Cola Services S.A., BE (CC); Juver Alimentación S.L.U., ES (JUVER); Naturex, ES (NATRX)

### Small and Medium-Sized Enterprises:

Axxam S.p.A., IT (AXXAM); BioActor BV, BE (BIOACT); Asociación Empresarial de Investigación Centro Tecnológico Nacional Agroalimentario "Extremadura", ES (CTAEX); Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación, ES (CTC); NIZO Food Research BV, NL (NIZO); RTD Services Vienna, AT (RTDS); ProDigest BVBA, BE (PRODI)

## Past and Upcoming Events

May 2012, 22-24

[Vitafoods](#), Geneva, Switzerland

September 2012, 4-7

[British Science Festival](#), Aberdeen UK

November 2012, 13-15

[Hi Europe, Ni & NuW](#), Frankfurt, Germany

## Satin in a Nutshell



Facts & figures at one glance.

|                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Project Title                          | SATIN – SATiety Innovation                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Call                                   | KBBE.2011.2.3-04: Satiety control through food structures made by novel processing, Food, Agriculture and Fisheries, and Biotechnology                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Short description and objective        | SATIN – SATiety INnovation aims at the development of food products by novel food processing that control satiety through modification of food structure.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Grant agreement no.                    | 289800                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Coordinator                            | Prof. Jason C.G. Halford Ph.D. C. Psychol. (Health),<br>Head of Department – Experimental Psychology, University of Liverpool                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Project Manager                        | Caroline Devine, University of Liverpool                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Work-packages and work-package leaders | WP1 – Selection of improved satiating food components by in vitro screening (Axxam, IT)<br>WP2 – Sensory Factors & food structures in satiation & satiety (Nizo Food Research, NL)<br>WP3 – Microbiota, gut function & biomarkers of appetite & related health claims (Univ. of Aberdeen, UK)<br>WP4 – Satiety & consumer health (University of Leeds, UK)<br>WP5 – Proof of Concept – lasting health benefits for consumers (University of Copenhagen, DK)<br>WP6 – Dissemination & Exploitation (RTD Services, AT)<br>WP7 – Project Management (University of Liverpool, UK) |

Hungry for more? Find more information and subscribe to newsletter: [www.satin-satiety.eu](http://www.satin-satiety.eu)



# PROYECTO EUROPEO Tol4FOOD

## “TRANSFERENCIA DE CONOCIMIENTO Y FORMACIÓN PARA PRODUCTORES DE ALIMENTOS EUROPEOS TRADICIONALES EN RELACIÓN CON METODOLOGÍAS INNOVADORAS DE CONTROL DE CALIDAD Tol4FOOD”

El principal objetivo del proyecto es el desarrollo e implementación de un sistema de formación integrado así como promover la cooperación y la movilidad entre investigadores y PYMES interesadas en la autenticidad de los alimentos tradicionales como un medio de mejorar la transferencia de conocimiento y buenas prácticas.

Algunas de las acciones de este proyecto son la creación de una Base de Datos de Alimentos Tradicionales de los tres países participantes (Rumania, Portugal y España) y acciones formativas sobre distintos temas de interés. Beneficiarios de Tol4FOOD: Pymes, Investigadores, Autoridades, Consumidores, Comunidad Educativa, etc.



Más información en: <http://www.tol4food.eu/>

Líder: Instituto de Biorecursos  
Alimentarios IBA, Rumania



Universidad Católica, Portugal

Socios: SIVECO, Rumania

CTC, España



CATÓLICA PORTO  
ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA



Centro  
Tecnológico  
Nacional de la  
Conserva y  
Alimentación

El presente proyecto ha sido financiado con el apoyo de la Comisión Europea. Esta publicación/comunicación es responsabilidad exclusiva de su autor. La Comisión no es responsable del uso que pueda hacerse de la información aquí difundida.

# STERILISATION AND VIRUS INACTIVATION BY SUPERCRITICAL FLUIDS: A REVIEW

---

MICHEL PERRUT

SEPAREX F-54250 CHAMPIGNEULLES FRANCE

MPERRUT@SEPAREX.FR FAX : + 33 383 31 24 83

ESTE ARTÍCULO HACE REFERENCIA A UN TRABAJO MÁS DETALLADO PUBLICADO EN EL JOURNAL OF SUPERCRITICAL FLUIDS 66 (2012) 359-371

LOS PROCESOS SUPERCRÍTICOS SE ESTÁN DESARROLLANDO TANTO EN APLICACIONES “CLÁSICAS” EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA COMO EN NUEVOS DOMINIOS RELACIONADOS CON CIENCIAS DE LA SALUD Y SON CADA VEZ DE MAYOR IMPORTANCIA LAS INTERACCIONES DE LOS FLUIDOS SUPER CRÍTICOS (FSCs) CON LOS MICROORGANISMOS. ES BIEN CONOCIDO QUE EL PROCESADO CON FSCs PROTEGE LOS PIENSOS DE LA OXIDACIÓN Y CONTAMINACIÓN CON DISOLVENTES ORGÁNICOS Y PREVIENE EL AUMENTO DE LA CARGA BACTERIANA. ADEMÁS, LOS FSCs HAN MOSTRADO TAMBIÉN SU EFICACIA AL ELIMINAR LA MAYORÍA DE LOS MICROORGANISMOS Y AL INACTIVAR VIRUS, INCLUYENDO LAS CEPAS PATÓGENAS PARA EL SER HUMANO. ESTE ARTÍCULO PRETENDE RESUMIR EL ESTADO DEL ARTE ACTUAL PARA ACENTUAR EL PROMETEDOR FUTURO DE LA ESTERILIZACIÓN / PASTEURIZACIÓN E INACTIVACIÓN DE VIRUS POR FSCs COMO UNA MÉTODO “VERDE” ALTERNATIVO A LOS PROCESOS CLÁSICOS QUE NO PUEDEN SER UTILIZADOS EN CIERTOS CASOS (COMO EL TRATAMIENTO TÉRMICO DE PRODUCTOS TERMOLÁBILES, O LA IRRADIACIÓN DE BIOMOLÉCULAS).

EN EFECTO SE HAN PUBLICADO RECIENTEMENTE MUCHOS RESULTADOS, A MENUDO DISPARES, Y A PESAR DE LA DIFICULTAD DE EXTRAER CONCLUSIONES FIRMES, SE CONCLUIRÍA LO SIGUIENTE:

- ▶ LA PASTEURIZACIÓN DE ALIMENTOS LÍQUIDOS ES OPERATIVA Y ESTÁ CERCA DE SER UTILIZADA YA A ESCALA COMERCIAL.
- ▶ DEBIDO A LA RESISTENCIA DE LAS ESPORAS DE BACTERIAS AL CO<sub>2</sub> SUPERCRÍTICO, PARECE SER NECESARIO UTILIZAR ADITIVOS PARA LOGRAR UNA ESTERILIZACIÓN COMPLETA.
- ▶ LA INACTIVACIÓN DE VIRUS TODAVÍA NECESITA BASTANTE INVESTIGACIÓN PARA OPTIMIZAR EL PROCESO Y LOGRAR ACEPTACIÓN COMO UNA ALTERNATIVA SEGURA A LAS TÉCNICAS ACTUALES.
- ▶ LA ESTERILIZACIÓN POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS DE ARTÍCULOS BIOMÉDICOS (COMO IMPLANTES, PRÓTESIS O INSTRUMENTAL MÉDICO) ES MUY INTERESANTE PARA PREVENIR INFECCIONES NOCOSOMIALES.

While supercritical processes are developing both in the “classical” applications in food industry and in new domains related to Health Sciences, the interactions of SCFs with living micro-organisms are of growing importance. It is known for long that SCF processing does protect the feeds from oxidation and contamination with organic solvents and prevent bioburden increase. Moreover, SCF were also shown to have the ability to kill most microorganisms and to “inactivate viruses”, including human pathogenic strains. This paper intends to summarise the present state-of-the-art in order to underline the promising future of SCF

sterilization/pasteurisation and virus inactivation as an alternative “green” method to classical processes that cannot be used in certain cases (i.e. heat treatment of thermolabile products, or irradiation of bio-molecules).

In fact, many results – often conflicting - were recently published, and even if it is difficult to raise firm conclusions, I would try to conclude as follows:

- Liquid food pasteurisation is operative and near to be employed at commercial scale;
- Due to bacteria spore resistance to supercritical CO<sub>2</sub>, the use of additives seems required to reach a complete sterilisation;
- Virus inactivation would need important further work to optimise the process and obtain acceptance as a safe alternative to present techniques;
- Supercritical fluid sterilisation of bio-medical items (like implants, prostheses or medical instruments) is of special interest to prevent nosocomial infections.

**Introduction.** For millenaries, food preservation has been fundamental for human kind as it has conditioned its survival and expansion under all climates. During the recent decades, pasteurisation and sterilisation have been a fast growing activity, especially for food preservation, medical devices and pharmaceuticals. Meanwhile the classical processes using heat cannot be used for heat-sensitive products, most operators have been more and more reluctant to move to low temperature processes based on irradiation and chemicals (like SO<sub>2</sub> or ethylene oxide) for many reasons including cost, safety and “consumerism” aspects.

Living organisms are sensitive to their environment in which they can maintain metabolic activity within narrow limits of temperature, pH, hydrostatic pressure, and chemical composition, although a variety of single cell organisms are capable to grow under extreme environmental conditions (e.g. deep-sea thermophilic bacteria). For long, high pressure treatment is used for pest control and sterilization in food industries – especially in Japan where irradiation was never accepted - as alternative to heat treatment that generally degrades product quality (aspect, taste, vitamin content, etc.). However, the required hydrostatic pressure for efficient

sterilization is extremely high (400 to 800 MPa) and exposition times are also considerable, which leads to costs incompatible with most markets. As already mentioned in early publications and patents [2,4-12], it is known for several decades that supercritical fluid exposure can be considered as a less expensive variant through various processes working at much lower pressures, where the stuff is contacted with carbon dioxide, possibly added with water or ethanol or other additives like hydrogen peroxide.

On the other hand, CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O, even at low pressure, inhibit the growth [1] and boost the inactivation rate of micro-organisms and spores during irradiation [2] or thermal treatment: it appears that a heat treatment at 50-55°C in presence of at 6 bar has the same lethal effect on several bacteria, fungi and yeasts as a heat treatment at 60-65°C in presence of air, or, in other terms, operating with this gas pressure could reduce by 50% the time of pasteurisation at a given temperature [17].

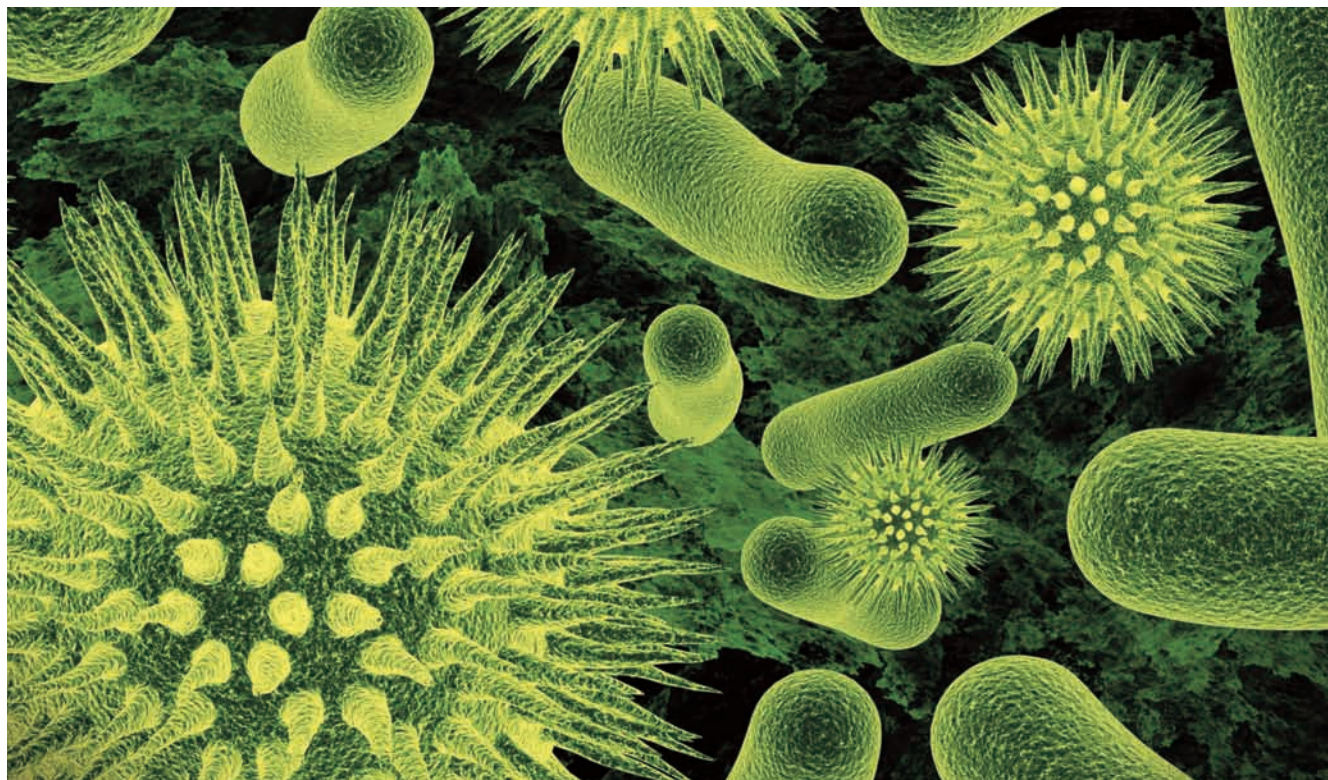
More recently, much attention has been paid to supercritical fluid pasteurisation of food products and sterilisation of various products and items, with a special attention dedicated to inactivation of spores that are known to be highly resistant to heat, drying, radiation, and chemical agents, meanwhile a few investigators worked on virus inactivation in plasma fractions and implants.

**Definitions.** For clarity, it seems necessary to remind some basic definitions and common practice according to international standards:

- *Sterility*: “Sterility is the absence of viable micro-organisms. As sterility cannot be guaranteed by testing; it has to be assured by the application of a suitably validated production process”.
- *Sterilisation*: The act of rendering something free from living cells, either by removing or killing or inactivating all micro-organisms, including vegetative forms and spores.
- *Validation* : In order to validate a production process, standardised preparations of selected micro-organisms are used; they usually consist in a population of bacterial spores. The recommended species by the European and the US Pharmacopeia are *B. stearothermophilus* for steam or gas sterilization, *B. subtilis* for dry-heat or gas sterilization, *B. pumilus* for irradiation and *P. diminuta* for sterile filtration.
- *Survival ratio, Reduction factor and sterilisation efficacy*: The sterilisation efficacy is often defined from the survival ratio  $N/N_0$  of the number of viable micro-organisms after the sterilization  $N$  to the one  $N_0$  before processing, and expressed in form of the reduction factor or degree of inactivation (DI):  $DI = -\log_{10} N/N_0$

The higher is this number, the higher is the process efficacy.

- *Sterilisation kinetics*: For a given process operated in given conditions, changes in microbial populations versus time is commonly described by the survivor curve equation:



$$\log_{10} N/N_0 = -t / D$$

where D is the decimal reduction time, or time required for a 1-log cycle reduction in the microbial population, by analogy with the first-order kinetic model for chemical reactions. Alternative models are being developed to explain microbial inactivation kinetics when the linearity of the data is questionable.

· *Sterility Assurance Level*: “SAL is the probability of a non-sterile item in a population. The SAL of a process for a given product is established by appropriate validation studies”. A SAL value of  $10^{-6}$  is generally regarded as acceptable.

· *Pasteurisation*: This word refers to a moderate heat treatment, invented by Pasteur, leading to micro-organisms inactivation without significant product degradation, essentially used on food products. By extension, pasteurisation is also used to designate other processes applicable to food stuffs (such as CO<sub>2</sub> treatment).

### Biological effects of supercritical fluids on microorganisms.

From several sources [4,5,12,15,34,35], comparison of the survival curves of microorganisms in contact with a pressurised gas like nitrogen, ethane or propane, and with a sub-/supercritical fluid (carbon dioxide, ethane, propane), clearly demonstrates that the bactericidal effect of these fluids cannot be attributed to the hydrostatic pressure in the range of tens or hundreds of bars. On the other hand, for long, it has been recognized that gaseous CO<sub>2</sub> can inhibit microbial growth, leading to its use in the preservation of packed foods, although its inactivation effect seems reversible; and even at

pressure as low as 6 bar, this gas exhibits a significant bactericide or bacteriostatic effect [2,15]. Moreover, this specific effect is definitely supported by the comparison of cell number decay of various micro-organisms when submitted to a very high hydrostatic pressure with and without carbon dioxide [16,19]: For example, the decay of *E. coli* in CO<sub>2</sub> at 15 MPa and 35°C during 15 min was similar to the one observed at 300 MPa at ambient temperature during the same period of time [16].

So, there is no doubt that this bactericidal effect is caused by specific interactions between the living cell and the fluid that readily dissolves inside the cell. As discussed in depth by Spilimbergo et al. [31,35,51,63], many authors proposed possible mechanisms, related to alteration of the cell membrane and of the internal metabolism, although quantification of each contribution remains unknown and some of these effects cannot be alluded when N<sub>2</sub>O is used:

- Cell wall rupture/perforation due to a strong interaction of the fluid with the lipids (mainly phospho-lipids), especially in case of rapid depressurisation; Spilimbergo et al. [63] recently presented in-situ monitoring of micro-organisms viability by cell fluorescent staining, this method permitting to discriminate viable and dead cells stained due to permeabilized membrane, supporting this inactivation mechanism.
- Inactivation of some key-enzymes resulting from pH decrease inside the cell [51], and specific inhibition of decarboxylases by excess of CO<sub>2</sub> breaking the metabolic chain;
- Inactivation of certain bio-reactions caused by lipid extraction;

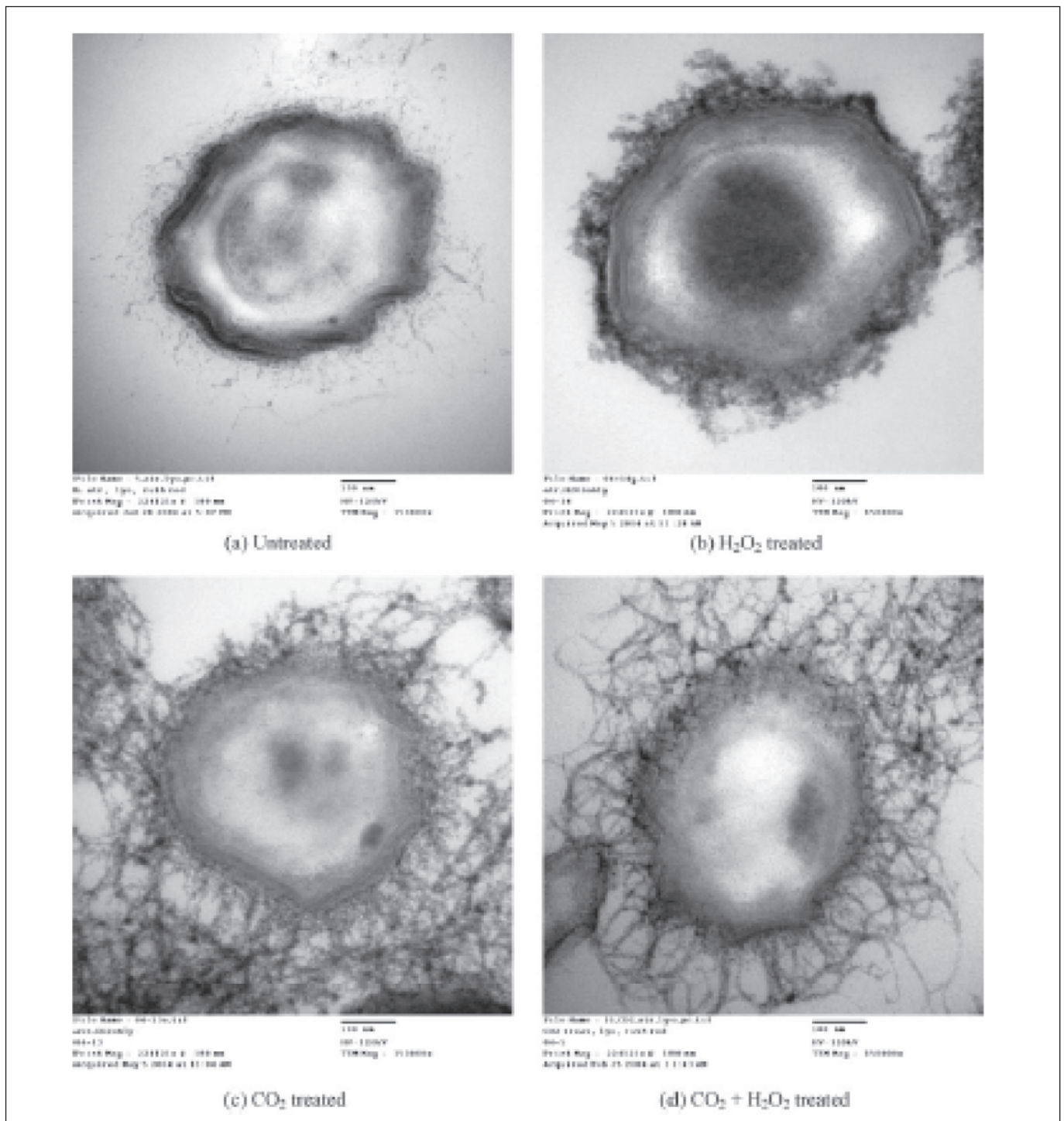


Figure 1. Images (Transmission Electron Microscope) of *B. atrophaeus* (from [65] with courtesy of the editor)

Precipitation of carbonates (Ca, Mg, etc.) from bicarbonates inside the cell when the CO<sub>2</sub> pressure is released. As membrane disruption and the resulting cell lysis by supercritical carbon dioxide rapid pressurisation/depressurisation cycles is proposed as an alternative to high-stress homogenisation to recover intracellular metabolites [7,13], it is not surprising that such pressurisation/depressurisation cycling [15,26,27,31,43,45] is a very positive factor on the sterilisation efficacy, and may considerably reduce the treatment time for obtaining a given

degree of inactivation. Another support for this mechanism comes from the synergetic effect of combining a very brief pulsed electric field pre-treatment and a classical high-pressure CO<sub>2</sub> treatment that leads to a very significant improvement of the sterilisation efficacy [38], as the pre-treatment may render the cell membrane more fragile (or damage it). Obviously, pressure, temperature and treatment duration are the basic parameters controlling the survival rate as shown by many results (see Table 1). But, it seems also clear that the matrix plays an important role [16], as exemplified by the

surprisingly different results obtained by Wei et al. [12] on different food ingredients spiked with bacteria, especially the completely different effect of the treatment on the whole egg and the egg yolk only. No doubt that the presence of water drastically increases the bactericidal effect of CO<sub>2</sub> [8,27,67], probably in relation with the resulting pH effect, as it was also shown during extended investigations on enzymatic reactions in supercritical media demonstrating the strong and irreversible effect of moisture excess on most enzymes [14]. Moreover, the pH of the treated stuff has a significant influence on the survival rate as an acidic pH seems to favour inactivation [15,28].

As far as spores are concerned, it is not surprising to see that the resistance to inactivation by contact with a sub-/supercritical fluid is much higher than for vegetative cells, and the few results [2,4,5,8,31,35,41,50,64-66] already disclosed show a dependence on the strain, a strong effect of temperature [31,41] and the high efficacy of the addition of a small concentration of hydrogen peroxide in CO<sub>2</sub> [50,64-66]. It seems that most spores including the most resistant ones (such as the heat-resistant *Geobacillus stearothermophilus*) can be inactivated by combination of “mild” heating (<100°C) and CO<sub>2</sub> treatment meanwhile a sole heat treatment would require at least 120°C [41] and a treatment with high-pressure CO<sub>2</sub> at 35°C has no or very limited effect on most spores [8,31,43,64,65]. As for bacteria, combination of a pulse electric field pre-treatment followed by high-pressure CO<sub>2</sub> treatment at 40°C is very efficient on spores although each of these processes has no significant effect when operated alone [38]. The spore inactivation mechanism is not yet understood, although it seems to be caused by disruption/perforation of the outer layers of spore structure, especially when the process is run in presence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> additive in CO<sub>2</sub> [50,64-66], as it appears on the images presented in figure 1: the fiber-like exosporium is significantly damaged by the different treatments, although the spores treated with pure CO<sub>2</sub> are not killed; it seems that spores processed with CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> show a less distinctive envelop, in relation with the high killing rate. Regarding viruses, the fluid interactions with the envelop seems to be the predominant cause of inactivation as, generally speaking, the decay of enveloped viruses is much higher than the decay of non-enveloped ones [53-58].

## Sterilisation processes

### *Sterile filtration*

In an early patent [3], the supercritical fluid (CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O or R13) is used as a solvent to dissolve the material (an active pharmaceutical ingredient) to be treated, the solution is then submitted to a sterile filtration and the solid is recovered by rapid depressurisation (RESS process) of the sterilised solution. Similarly, another patent [22] proposed to dissolve the material into a liquid solvent, submit the solution to a sterile filtration

and the solid is recovered by addition of a supercritical anti-solvent. In fact, no specific sterilising effect of the supercritical fluid was claimed in both patents.

### *Carbon dioxide sterilisation*

Most recent works refer to the specific properties of carbon dioxide, possibly added with another agent (such as H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> or ethanol) to kill micro-organism. CO<sub>2</sub> is also preferred due to its harmless character, low cost and great availability, although N<sub>2</sub>O seems to have a similar lethal effect on most micro-organisms. However, in some cases, the acidity of CO<sub>2</sub> can cause an undesirable effect on the treated product, especially when pH-sensitive proteins are processed (i.e., human plasma sterilization by N<sub>2</sub>O, as CO<sub>2</sub> in aqueous solution leads to an irreversible denaturation of the clotting factors).

When the feed to be processed is a solid – either for sterilisation uniquely or for another purpose (extraction, particle design, impregnation, etc.) in combination with sterilisation –, the contactor consists in a vessel preferably equipped with a quick closure system, and having a container (basket) to facilitate charging and discharging of product, similarly with currently used SCF equipment as shown on figure 2. It seems that performing a continuous flow of fluid is much more efficient than using a static contact only, supporting the fact that mass transfer is a significant parameter [26].

Counter-current columns or membrane units (such as POROCRIT as presented on Figure 3) are the most effective systems for treatment of liquids and, in this case, pasteurisation/sterilisation can be carried out in continuous mode [23,24,29,32,33].

The main parameters to optimise can be listed as:

- Temperature seems to be the major parameter, with a drastic increase of the degree of inactivation over 40°C;
- Pressure, decompression mode and pressurisation/depressurisation cycles : the use of pressure cycling with a P in the range of 100 bar was shown to significantly reduce the exposure time to reach a given degree of inactivation;
- Exposure time: generally comprised between 5 and 60 min;
- Moisture content: A wet sample is always easier to inactivate than a dry one;
- Possibly, addition of a co-agent such as an alcohol, hydrogen peroxide, etc.
- Possibly, use of a pulse electric field, that seems to render the cell membranes more fragile and facilitate the inactivation by CO<sub>2</sub>.

Another comment must also be raised at this point: It has been reported that inactivation of micro-organisms “naturally” present in a matrix are generally more difficult to inactivate than the same strains spiked by the investigator into this same matrix. This fact shall lead to prudence when extrapolating laboratory results to “real” samples processing.



Figure 2. SCF - processed powder from a particle-generation SCF equipment harvesting in a laminar hood inside a clean room. (Courtesy SEPAREX)

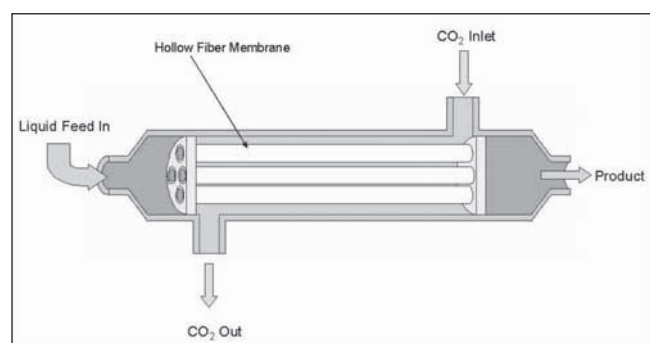


Figure 3. POROCRIT Membrane module supplied by Membrana - Charlotte, a División of Celgard, Inc. (Courtesy of POROCRIT LLC).

## Applications

### Pest control

Pressure of 3.5 to 35 bar within the cell is sufficient to burst a cell wall. It has been proved, that the CO<sub>2</sub> pressure of 10 to 50 bar is enough to kill insect eggs, larva or beetles after exposure during 10 to 20 min; this strong effect may be connected with gas action as a respiratory analeptic [7]. A recent study [40] confirmed that the most common insects and their eggs present in rice (*Sitophilus oryzae* L. and *Oryzaephilus surinamensis* L.) can be completely eradicated by CO<sub>2</sub> at relatively low pressure conditions (25 bar). This process is used at very large scale to treat with low pressure CO<sub>2</sub> huge amounts of overseas supply of food products (like rice) and medicinal plants often contaminated with insects.

### Bacteria and fungi

We would firstly refer to the excellent review by Spilimbergo and Bertucco [35]. Although not exhaustive, Table 1 gathers the results published by the different authors, classified by micro-organisms, with a summary of the processing conditions. Most works were completed with the micro-organisms selected for sterility validation belonging to the three biological types: Aerobic bacteria (*B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*), anaerobic bacteria (*C. sporogenes*), and fungi (*C. albicans*, *A. niger*) or with those widely present (such as *E. coli*) or those presenting a very high resistance to sterilisation (such as spores of *B. stearothermophilus* and *B. subtilis*).

If not otherwise specified, experiments were run with supercritical carbon dioxide. This table is not at all an exhaustive report of those works, but may help the reader to select the documents in which he will find information relevant to his requirements. In table 2, are presented the different materials treated by supercritical fluids.

### Virus inactivation:

After the terrible contamination of thousands of transfused patients by HIV (AIDS) virus and, more recently discovered, by non-A non-B Hepatitis (NANBHV) viruses, greater and greater attention is paid to virus safety on all bio-products originated from human sources, mainly of blood and plasma fractions, but also of all other organs or tissues to be re-implanted, and even on r-DNA products prepared by biotechnology processes. As these products are very fragile to temperature, irradiation

| Micro-organisms                                                                                   | Materials   |                                                                                                                                                          | Conditions               |                            |                          | Reduction factor<br>- log <sub>10</sub> N/No | Ref.        |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------------------------|-------------|
|                                                                                                   | Fluid       | Matrix                                                                                                                                                   | Pressure<br>Bar          | Temp.<br>°C                | Time<br>min              |                                              |             |
| Alicyclobacillus acidoterrestris (spores)                                                         |             | CO <sub>2</sub> -saturated orange juice                                                                                                                  | 75                       | 45                         |                          | Total St.                                    | 32          |
| Aspergillus niger                                                                                 |             | Pure CO <sub>2</sub><br>+ 2% ethanol<br>+ 0.5% acetic acid                                                                                               | 200                      | 35                         | 120                      | Wet :4.9<br>>5.6<br>>5.1                     | 8           |
| Bacillus anthracis (spores)                                                                       |             | CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (200ppm)                                                                                                 |                          |                            |                          |                                              | 65          |
| Bacillus atrophaeus (spores)                                                                      |             | CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (200ppm)                                                                                                 |                          |                            |                          |                                              | 50,65,      |
| Bacillus cereus                                                                                   |             | Pressure cycling                                                                                                                                         | 275<br>205               | 40<br>34-60                | 240<br>36-240            | > 6.25<br>1-8                                | 66<br>26,27 |
| Bacillus cereus (spores)                                                                          |             | Pulse electric field pre-treatment                                                                                                                       | 200<br>300               | 40<br>40                   | 900<br>1,440             | 1.7<br>4.0                                   | 38          |
| Bacillus cereus (spores)                                                                          |             |                                                                                                                                                          | 300                      | 35                         | 30-120                   | 0.7-1.5                                      | 41          |
| Bacillus coagulans (spores)                                                                       |             |                                                                                                                                                          | 300                      | 35                         | 30-120                   | 0.7-1.5                                      | 41          |
| Bacillus licheniformis (spores)                                                                   |             |                                                                                                                                                          | 300                      | 35                         | 30-120                   | 0.7-1.5                                      | 41          |
| Bacillus pumilus (spores)                                                                         |             | CO <sub>2</sub> + water<br>CO <sub>2</sub> + ethanol (70%)<br>CO <sub>2</sub> + IPA (70%)<br>CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (70-200ppm) | 275<br>275<br>275<br>275 | 50-80<br>40<br>40<br>40-60 | 240<br>240<br>240<br>240 | 0.6-3.0<br>0.3<br>0.2<br>4.0-6.3             | 64          |
| Bacillus subtilis                                                                                 |             |                                                                                                                                                          | 500-2,500                |                            | 20                       | 6                                            | 5           |
| Bacillus subtilis                                                                                 |             |                                                                                                                                                          | 55.1                     | 25                         | 60                       | 4.4                                          | 15          |
| Bacillus subtilis                                                                                 |             |                                                                                                                                                          | 58-74                    | 38                         | 2.5-30                   | > 7                                          | 31          |
| Bacillus subtilis                                                                                 |             |                                                                                                                                                          | 75-150                   | 35-45                      | 10-75                    | 5.5->7                                       | 37          |
| Bacillus subtilis                                                                                 |             | Grape must                                                                                                                                               | 85-110                   | 40                         | 5-60                     | 1-4                                          | 42          |
| Bacillus subtilis                                                                                 |             | Extra- and intra-cellular pH meas.                                                                                                                       | 55-80                    | 25-30                      | 5                        | 3.1-5.3                                      | 51          |
| Bacillus subtilis (endospores)                                                                    |             |                                                                                                                                                          | 200                      | 35                         | 120                      | 0.32                                         | 8           |
| Bacillus subtilis (endospores)                                                                    |             | Static<br>Static<br>Cycling semi-continuous                                                                                                              | 74-200<br>70<br>150      | 40-54<br>75<br>3-54        | 30-90<br>1,440<br>1-20   | 0.9-1.1<br>> 7<br>0.8-3.5                    | 31          |
| Bacillus subtilis(endospores)                                                                     |             |                                                                                                                                                          | 70-150                   | 60                         | 360                      | Total St.                                    | 36          |
| Bacillus subtilis (endospores)                                                                    |             |                                                                                                                                                          | 300                      | 35                         | 30-120                   | 0.5                                          | 41          |
| Bacillus subtilis (endospores)                                                                    |             | CO <sub>2</sub> + acetic or peracetic acid<br>Pressure cycling<br>Cortical bone                                                                          | 207                      | 60                         | 240                      | Total                                        | 43,45       |
| Bacillus subtilis (endospores)                                                                    |             | CO <sub>2</sub> + acetic acid<br>Pressure cycling                                                                                                        | 207                      | 50                         | 3 x 40                   | 6.0-6.9                                      | 43          |
| Spores of Bacillus cereus/subtilis/megaterium/polymyxa/coagulans/circulans/licheniformis/macerons | Liquid      | Acetic buffer                                                                                                                                            | 300                      | 40-60                      | 30-60                    | Total St.                                    | 23,24       |
| Bacillus stearothermophilus (endospores)                                                          |             | CO <sub>2</sub><br>CO <sub>2</sub> + water + TFA                                                                                                         | 75-207                   | 60                         | 120                      | 1.0<br>6.4                                   | 43          |
| Bacillus stearothermophilus (endospores)                                                          |             | Pure CO <sub>2</sub><br>+ 2% ethanol<br>+ 0.5% acetic acid                                                                                               | 200                      | 35                         | 120                      | 0<br>0.2<br>0.4                              | 8           |
| Geobacillus stearothermophilus (spores)                                                           |             |                                                                                                                                                          | 300                      | 35-95                      | 20-120                   | 0.5-5                                        | 41          |
| Candida utilis                                                                                    |             |                                                                                                                                                          | 60-110                   | 10-38                      | 5                        | Almost total St.                             | 20          |
| Candida albicans                                                                                  |             |                                                                                                                                                          | 500-2,500                |                            | 20                       | 8                                            | 5           |
| Clostridium thermocellum                                                                          |             | N <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> , ethane, propane, CO <sub>2</sub>                                                                                       |                          |                            |                          | Study of inactivation                        | 34          |
| Clostridia 3679 spores                                                                            | Irradiation | Beef                                                                                                                                                     | 1-8                      | 38                         |                          |                                              | 2           |
| Enterococcus faecium                                                                              |             | Buffer pH 6.4                                                                                                                                            | 75                       | 40                         | 30                       | > 6.4                                        | 28          |
| Escherichia coli                                                                                  | Irradiation | Beef                                                                                                                                                     | 8                        | 38                         |                          |                                              | 2           |
| Escherichia coli                                                                                  |             |                                                                                                                                                          | 500-2,500                |                            | 20                       | 6-8                                          | 5           |
| Escherichia coli                                                                                  |             |                                                                                                                                                          | 40-200                   | 20-35                      | 0-120                    | 3.9-5.1                                      | 8           |

|                                       |                                                                                                    |               |            |              |                     |              |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|------------|--------------|---------------------|--------------|
| Escherichia coli                      | Pressure cycling or not                                                                            | 40-70<br>55.1 | 2-40<br>25 | 15-120<br>60 | 0 – 5<br>2.85       | 15           |
| Escherichia coli                      |                                                                                                    | 150           | 35         | 60           | 7 – 8               | 16           |
| Escherichia coli                      | Micro-bubble reactor Liquid food                                                                   | 250           | 35         | 30           | Total St.           | 23,24        |
| Escherichia coli                      | Buffer solution                                                                                    | 310           | 42.5       | 15           | 7                   | 25           |
| Escherichia coli                      | Pressure cycling Water 140 - 205                                                                   | 25-42         | 30-60      | 8            | 26,27               |              |
| Escherichia coli                      | Buffer pH 6.4                                                                                      | 75            | 40         | 30           | > 6.0               | 28           |
| Escherichia coli                      | CO <sub>2</sub> -saturated orange j.                                                               | 75-150        | 25         |              | Total St.           | 32           |
| Escherichia coli                      | Pulse electric field pre-treatment                                                                 | 80-200        | 34         | 10           | > 8                 | 38           |
| Escherichia coli                      | CO <sub>2</sub> + water Cotton<br>CO <sub>2</sub> + propanol Fabric<br>CO <sub>2</sub> + triclosan | 70            | 20         | 15           | Total St.           | 39,46,<br>48 |
| Escherichia coli                      | CO <sub>2</sub> + water<br>Cotton 50%+polyester 50%r                                               | 50-100        | 20-65      | 30-120       | Total St.           | 67           |
| Escherichia coli                      | Rice                                                                                               | 1-100         | 40-60      | 30           | 0.5 - 8             | 40           |
| Kloeckera apiculata                   | Grape juice                                                                                        | 75            | 40         | 30           | Total               | 28           |
| Kluyveromyces fragilis                | Saline water                                                                                       | 75-100        | 33         | 5            | Almost total<br>St. | 20           |
| Lactobacillus casei Buffer            | pH 6.4                                                                                             | 75            | 40         | 30           | 6.3                 | 28           |
| Lactobacillus spp.                    | Milk serum                                                                                         | 75            | 40         | 15           | 2.7                 | 28           |
| Lactobacillus plantarum               |                                                                                                    | 150           | 5-40       | 60           | 0-7                 | 16           |
| Lactobacillus plantarum               | CO <sub>2</sub> -saturated orange j.<br>POROCRIT orange juice                                      | 150<br>75     | 35<br>40   | <br>1        | Total St.<br>> 8    | 32<br>33     |
| Lactobacillus brevis                  | Liquid Green sake                                                                                  | 250           | 35         | 30           | Total St.           | 24           |
| Leuconostoc dextranicum               |                                                                                                    | 210           | 35         | 15           | Total St.           | 19           |
| Leuconostoc mesenteroides             | CO <sub>2</sub> -saturated orange j.                                                               | 150           | 25         |              | Total St.           | 32           |
| Legionella dunifii                    | Pressure cycling                                                                                   | 205           | 40         | 90           | 4                   | 26,27        |
| Listeria monocytogenes                | Water<br>Various food                                                                              | 61.8<br>137   | 35<br>35   | 120<br>120   | 7<br>0 – 8          | 12           |
| Listeria monocytogenes                |                                                                                                    | 210           | 35         | 14           | Total St.           | 21           |
| Listeria innocua                      | Pressure cycling                                                                                   | 205           | 34         | 36           | 3 - 9               | 26,27        |
| Micrococcus luteus                    | CO <sub>2</sub> + water<br>Cotton 50%+polyester 50%r                                               | 50-100        | 20-65      | 30-120       | Total St.           | 67           |
| Penicillium sp.                       | Rice                                                                                               | 1-100         | 40-60      | 30           | 0.5 - >5            | 40           |
| Pichia awry 1272                      | Grape must                                                                                         | 85-110        | 32-40      | 5-60         | 1 - 4               | 42           |
| Proteus vulgaris                      | Pressure cycling                                                                                   | 205           | 34         | 36           | 8                   | 26,27        |
| Pseudomonas aeruginosa                |                                                                                                    | 500-2,500     |            | 20           | 8                   | 5            |
| Pseudomonas aeruginosa                | Pressure cycling                                                                                   | 205           | 34-40      | 36-240       | 6 - 8               | 26,27        |
| Pseudomonas fluorescens               |                                                                                                    | 55.1          | 25         | 60           | 3.5                 | 15           |
| Saccharomyces cerevisiae              |                                                                                                    | 200           | 35         | 120          | 6.3                 | 8            |
| Saccharomyces cerevisiae              |                                                                                                    | 75-100        | 33         | 5            | Almost total<br>St. | 20           |
| Saccharomyces cerevisiae              | Buffer pH 6.4<br>Grape juice                                                                       | 75            | 40         | 30           | >4.6<br>Total St.   | 28           |
| Saccharomyces cerevisiae              | CO <sub>2</sub> -saturated orange j.                                                               | 150           | 25         |              | Total St.           | 32           |
| Saccharomyces cerevisiae (ascospores) | CO <sub>2</sub> -saturated orange j.                                                               | 150           | 45         |              | Total St.           | 32           |
| Saccharomyces cerevisiae              | Peptonated sterile water                                                                           | 100           | 36         | 30           | 3                   | 63           |
| Salmonella                            | Irradiation Soybean meal                                                                           | 6             | 38         |              |                     | 2            |
| Salmonella typhimurium (food)         | Various food                                                                                       | 137           | 35         | 120          | 0 – 8               | 12           |
| Salmonella salford                    | Pressure cycling                                                                                   | 205           | 34-40      | 36-240       | 3 - 9               | 26,27        |
| Staphylococcus aureus                 |                                                                                                    | 200           | 35         | 120          | 4.8                 | 8            |
| Staphylococcus aureus                 |                                                                                                    | 55.1          | 25         | 60           | 1.71                | 15           |
| Staphylococcus aureus                 | Buffer solution                                                                                    | 310           | 42.5       | 15           | 7                   | 25           |
| Staphylococcus aureus                 | Pressure cycling                                                                                   | 205           | 34-40      | 36-240       | 3 - 9               | 26,27        |
| Staphylococcus aureus                 | Pulse electric field pre-treatment                                                                 | 80-200        | 34         | 10           | > 8                 | 38           |
| Staphylococcus aureus                 | Liquid whole egg                                                                                   | 100           | 40         | 30           | >6.3                | 47           |
| Staphylococcus aureus                 | CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Ti-surfaces                                        | 276           | 20-40      |              | Almost total        | 49           |
| Streptococcus spp.                    | Milk serum                                                                                         | 75            | 40         | 15           | 3.9                 | 28           |
| Yeast (naturally present)             | Orange juice                                                                                       | 80-90         | 38         | 30-120       | 4.2- 6.7            | 30           |

Table 1. List of micro-organisms processed by supercritical fluid

| Material                                       | Process                   | Agent                                                                           | Conditions      |             |                 | Ref.     |
|------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-------------|-----------------|----------|
|                                                |                           |                                                                                 | Pressure<br>Bar | Temp.<br>°C | Time<br>min     |          |
| Ground beef                                    | Batch                     | CO <sub>2</sub> + irradiation                                                   | 1-8             | 38          |                 | 2        |
| Defatted soybean meal                          |                           |                                                                                 |                 |             |                 |          |
| Solids (pharmaceut.)                           | RESS                      | CO <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> O, R <sub>13</sub>                             |                 |             |                 | 3        |
| Powdery substance                              | Batch                     | CO <sub>2</sub>                                                                 | 100-300         | 30-40       | 30-120          | 6        |
| Porcine plasma Powder                          | Batch                     | CO <sub>2</sub> + ethanol/acetic acid                                           | 200             | 35          | 20              | 9        |
| Articles (medical, linen)                      | Batch                     | CO <sub>2</sub> + addit., NH <sub>3</sub> , CFCs                                | 30-330          | 8-380       |                 | 10       |
| Plant and animal mater.                        | Batch                     | CO <sub>2</sub> + N <sub>2</sub> O                                              | 1-30            | 50-70       | 2-6             | 18       |
| Liquid food or medicine                        | Semi-cont.                | CO <sub>2</sub>                                                                 | 250-300         | 35-50       | 30-80           | 22,23    |
| Grape juice                                    | Cont. flow                | CO <sub>2</sub>                                                                 | 75              | 40          | 30              | 28       |
| Milk serum                                     | Cont. flow                | CO <sub>2</sub>                                                                 | 75              | 40          | 15              | 28       |
| Orange juice                                   | Cont. flow                | CO <sub>2</sub>                                                                 | 80-90           | 38          | 30-120          | 30       |
| Orange juice                                   | POROCRIT                  | CO <sub>2</sub> - membrane                                                      | 75              | 40          | 1               | 32,33    |
| Prednisolone acetate                           | Anti-solvent              | CO <sub>2</sub>                                                                 |                 |             |                 | 22       |
| PLGA & PLA particles                           | Press. cycling            | CO <sub>2</sub>                                                                 | 205             | 25          | 60              | 26,27    |
| Tomato sauce                                   | Batch &<br>semicontinuous | CO <sub>2</sub>                                                                 | 75-150<br>110   | 35-45<br>40 | 10-175<br>10-75 | 37<br>42 |
| Textile (cotton fabric)                        | Batch                     | CO <sub>2</sub> +<br>water/propanol/triclosan                                   | 70              | 20          | 15              | 39,46,48 |
| Textile (50% cotton –<br>50% polyester fabric) | Batch                     | CO <sub>2</sub>                                                                 | 50-100          | 20-65       | 30-120          | 67       |
| Grape must                                     | Batch                     | CO <sub>2</sub>                                                                 | 80-110          | 32-40       | 5-60            | 42       |
| Rice                                           | Batch                     | CO <sub>2</sub>                                                                 | 1-100           | 40-60       | 30              | 40       |
| Liquid whole egg                               | Batch                     | CO <sub>2</sub>                                                                 | 100             | 40          | 30              | 47       |
| Ti-surfaces                                    | Batch                     | CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                                 | 276             | 20-40       |                 | 49       |
| Bone allografts                                | Batch                     | CO <sub>2</sub> + additives (acetic or<br>peracetic or<br>trifluoroacetic acid) |                 |             |                 | 43,45    |

Table 2. Sterilisation by supercritical fluid processing

and chemical agents, virus inactivation at low temperature by supercritical fluid processing appears of key interest. The first investigation was published by Stahl et al. [5,7] who found a weak inactivation ( $\sim 2 \log_{10}$ ) of Coliphage virus by very high pressure CO<sub>2</sub> in the range of 2,500 bar. The same virus was claimed to be completely inactivated by CO<sub>2</sub> at 300 bar and 50°C during a 30-min contact between the fluid and the aqueous medium [23]. In the 90's, two groups disclosed attractive results on plasma fractions processing. The first one [52-54] submitted all samples to supercritical N<sub>2</sub>O treatment at a pressure of 25 MPa and temperature between 37 and 50°C for 2 hours. The chosen viruses were selected as they exhibit various degrees of resistance to physico-chemical treatments : Polio 1 (non-enveloped RNA virus), Reo 3 (non-enveloped RNA virus), Sindbis (enveloped RNA virus), BVDV (enveloped RNA virus) and the PRV (enveloped DNA virus). In particular, Sindbis and BVDV are used as model for hepatitis C and G viruses owing to the fact that these viruses cannot be propagated and tested meanwhile PRV has a resistance similar to that of the hepatitis B virus. Supercritical fluid N<sub>2</sub>O was shown to be efficient to inactivate most viruses ; however, the inactivation is more efficient on enveloped viruses, probably due to interaction with the lipids of this envelop, than on non-enveloped viruses (table 3).

In parallel to virus inactivation evaluation, bio-activity of the plasmatic factors were measured before and after treatment with SC-N<sub>2</sub>O or SC-CO<sub>2</sub> (25 MPa, 50°C, 2h): The loss of activity of coagulation factors, known for their fragility (fibrinogen (Fbn), Factor V (FV), Factor VII (FVII), Factor VIII (FVIII), Factor IX (FIX) and von Willebrand factor (vWF)), was very limited, while the activity of protease inhibitors ( $\alpha 1$ -antitrypsin and antithrombin III) was also shown to be fully preserved; recoveries of albumin and immunoglobulins G were 100 %. Moreover, the electrophoretic profile did not reveal any protein degradation, or any aggregation. The second group [54-58] disclosed extended results on virus inactivation by using several near-critical/supercritical fluids including CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O, fluorocarbons (R22, R23, R134a, R124), and propane, and compressed nitrogen. Most results (table 4) were obtained on murine-C retrovirus (MnLV), as model of HIV; other results were also presented on several virus types, as summarized in table 5. Although it is difficult to raise conclusions from these data, released to support patent claims, it appears that supercritical N<sub>2</sub>O, R22 and R23 are good candidates as inactivation fluids, and that operation conditions (pressure, temperature, contact time) greatly influence the reduction factor. According to the authors, this inactivation that appears more important for enveloped viruses than for non-enveloped ones may be related to a partial phospholipid

| Virus   | Envelop | Genome | Size (nm) | Duration (hours) | Reduction factor (log <sub>10</sub> ) |
|---------|---------|--------|-----------|------------------|---------------------------------------|
| Sindbis | +       | RNA    | 55-60     | 1.5              | > 2.4 *                               |
| BVDV    | +       | RNA    | 55-60     | < 2              | > 6.3 *                               |
| PRV     | +       | DNA    | 120-200   | 1.5              | > 4.3 *                               |
| Polio 1 | -       | RNA    | 25-30     | 2                | 3.1                                   |
| Reo 3   | -       | RNA    | 60-80     | 2                | 2.0                                   |

Table 3. Viral inactivation during supercritical N<sub>2</sub>O treatment (25MPa, 37°C) [54]. \* below detection limit.

| Processing Fluid           | Operating conditions   | Time (min) | Reduction factor (log <sub>10</sub> ) |
|----------------------------|------------------------|------------|---------------------------------------|
| R22                        | 41°C, 21 MPa           | 5 - 60     | 3.2 - > 3.6                           |
| N <sub>2</sub> O           | 22 - 60°C, 14 - 34 MPa | 1 - 120    | 1.0 - > 5.5                           |
| N <sub>2</sub> O + Ethanol | 41°C, 21 MPa           | 30         | 1.1                                   |
| N <sub>2</sub>             | 41°C, 21 - 22.4 MPa    | 30 - 60    | 0.2 - 0.7                             |
| Propane                    | 41°C, 21 MPa           | 30         | 1.4                                   |

Table 4. Inactivation of Murine-C retrovirus [65,67]

| Virus   | Envelop | Genome | Size (nm) | Duration (hours)                 | Reduction factor (log <sub>10</sub> ) |
|---------|---------|--------|-----------|----------------------------------|---------------------------------------|
| Adeno   | -       | DNA    | 70-90     | R22, 50°C, 21MPa                 | > 5.1                                 |
| Polio   | -       | RNA    | 18-26     | R22, 50°C, 21 MPa                | 4.1 - 4.2                             |
| HAV     | -       | RNA    | 24-30     | R22, 50°C, 21 MPa                | 1.0 - 1.3                             |
| Reo     | -       | RNA    | 65-75     | R22, 50°C, 21 MPa                | 0.9 - 1.0                             |
| VSV     | +       | RNA    | 60-180    | R22, 50°C, 21 Mpa                | > 6.5                                 |
| VSV     | +       | RNA    | 60-180    | N <sub>2</sub> O, 40°C, 34.5 MPa | 2.5 - > 5.5                           |
| Sindbis | +       | RNA    | 60-70     | R22, 50°C, 21MPa                 | 6.5                                   |
| TGE     | +       | RNA    | 80-130    | R22, 50°C, 21 Mpa                | > 2.5                                 |
| BVD     | +       | RNA    | 60-70     | R22, 50°C, 21 MPa                | 2.3                                   |
| EMC     | -       | RNA    | 20-30     | R22, 50°C, 21 MPa                | 4.2 - 5.9                             |
| EMC     | -       | RNA    | 20-30     | R134a, 50°C, 21 MPa              | 0.1 - 1.3                             |
| EMC     | -       | RNA    | 20-30     | R124, 50°C, 21 MPa               | 0.4 - 0.5                             |
| EMC     | -       | RNA    | 20-30     | R23, 26 - 58°C, 7 - 34.5 MPa     | 0 - 4.6                               |

Table 5. Inactivation of various virus [56]

solubilisation/liberation and envelop disruption. But, curiously, although these fluids are known to be also good lipid solvents, ethanol-added N<sub>2</sub>O and other fluorinated fluids look less efficient.

These results also show that some viruses seem particularly resistant (Reo, as found by our group [52], and HAV). Moreover, the authors also claimed no significant alteration of bovine plasma composition during processing with the different fluids; moreover, no important loss of bio-activity of clotting factors (porcine and human plasma) after processing with N<sub>2</sub>O, meanwhile impact of processing with other fluids remains to be evaluated.

Another group [59-62] developed a commercial process for preparation of bone allografts : four viruses (HIV-1, Sindbis, Polio Sabin type I and Pseudorabies) were loaded on bone samples that were submitted to supercritical CO<sub>2</sub> processing for lipid extraction at 25 MPa and 50°C during 10 min. per g of bone ; the virus load was heavily reduced and remained below the detection level for any virus type (reduction factor over 4 log). Obviously, in this case, no care was taken to preservation of bio-molecules as only the mineral matrix is further used. From these results, it clearly appears that virus inactivation can

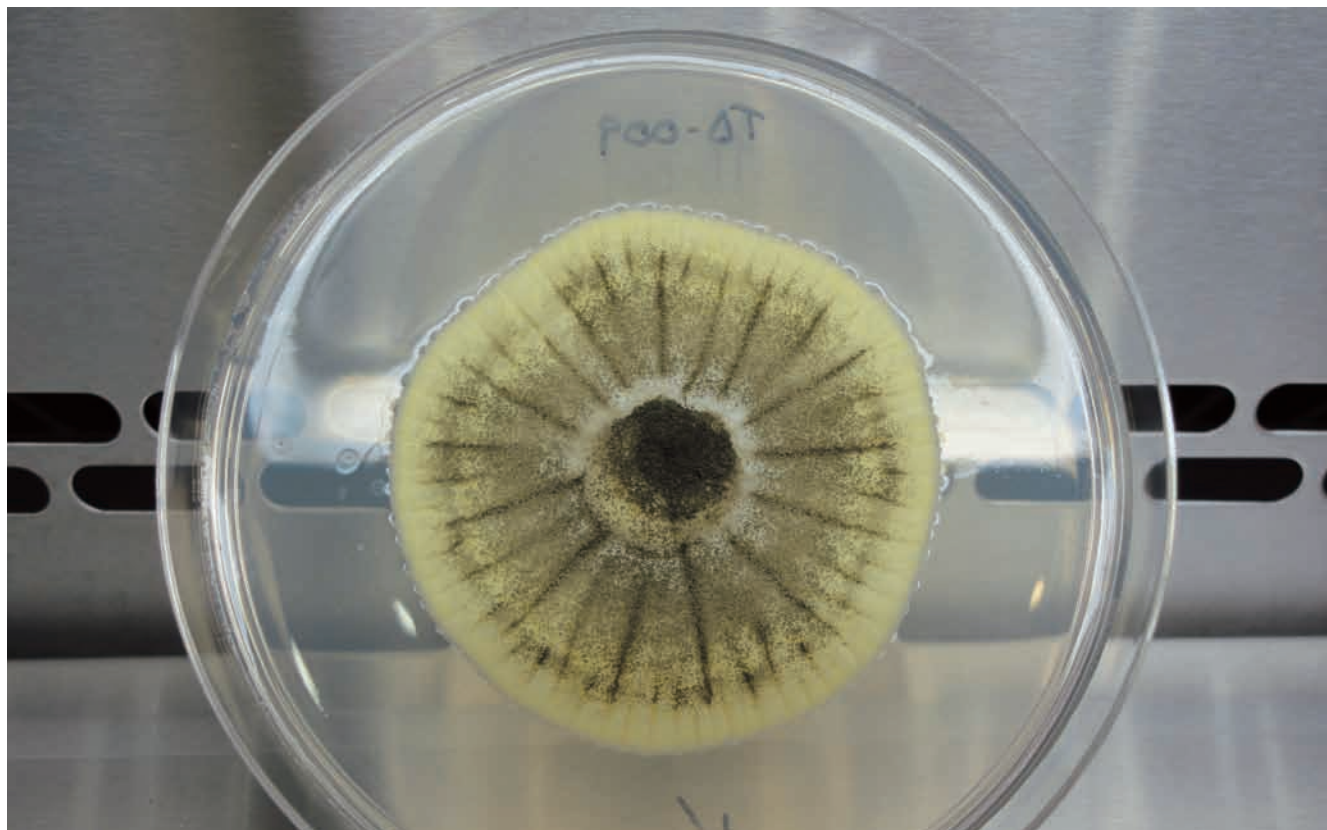
be operated using subcritical, near-critical or supercritical fluids:

- When there is no risk of protein degradation, it is easy to “strongly strike” and to meet the required inactivation factors;
- In the case of blood/plasma fractions, it is possible to find operating conditions leading to an “acceptable” loss of bio-activity of the plasma proteins although, in these conditions, the reduction factors are not high enough for all types of viruses: This means that, hopefully, it would be possible to find a widely efficient method, but, obviously, significant work for process optimisation (fluid nature, operating conditions, stabilizing agents composition) must be completed prior to considering this inactivation process as reliable for clinical products.

#### *Inactivation for immunogenic preparations*

As supercritical fluid inactivation of micro-organisms is known to cause limited damages to the vegetative cells and viruses, and in certain “mild” conditions to the proteins present in the membrane or envelop, this technique can be envisaged for obtaining immunogenic preparation that might be used for vaccine manufacture.

A recent patent [44] claims the use of near-critical or



supercritical carbon dioxide for inactivating whole micro-organisms, as exemplified by inactivation of *Salmonella typhimurium*, the causative agent of typhoid fever in human, by supercritical CO<sub>2</sub> (103 bar, 35°C, 15 min): a positive immunologic response is expected by the inventors although not yet evidenced.

A second patent [68] describes the preparation of vaccines based on virus inactivated by contact with a supercritical fluid, especially N<sub>2</sub>O loaded with 10 to 1,000 ppm of CO<sub>2</sub> that is claimed to inactivate HIV viruses of different strains: when injected in mice, these treated viruses lead to an immunogenic effect similar to the one observed by heat-inactivated viruses.

However, it seems that, beyond these claims, a long effort is still required to prepare safe and reliable vaccines by this method, probably in combination with existing routes.

#### *Elimination of endotoxins and pyrogens*

As far as prostheses implantation and parenteral drug administration are concerned, the material must be sterile, but also free of endotoxins/pyrogens that induce unwanted sideeffects like fever and inflammation. These molecules are lipo-polysaccharides mainly originated from bacteria membranes, and their elimination is very difficult, generally operated by contact with chemicals that often damage the treated substrate. As their hydrophilic nature does not offer the possibility of elimination by supercritical fluid extraction, it is not surprising that, until now, we found no results in literature that may open this improbable route.

## Conclusion

While pasteurisation, sterilisation and virus inactivation are of growing importance in food, pharmaceutical and bio-medical industries, in relation with quality and safety improvement, supercritical fluid treatments look attractive because they permit to avoid heat processing and irradiation that cannot be used in an increasing number of cases.

As reviewed in this paper, much work has been being done during the two last decades and even if it is difficult to raise firm conclusions on the efficacy of the proposed methods from these available results that are often conflicting, I would say that:

- Pest (insects) elimination from food and medicinal plants by contacting with lowpressure carbon dioxide is a commercial process used at very large scale;
- Liquid food stuff pasteurisation is operative and near to be employed at commercial scale;
- Although most bacteria and fungi vegetative cells can be inactivated by high-pressure CO<sub>2</sub>, the use of additives seems required to reach a complete sterilisation due to spore resistance;
- Virus inactivation would need important further work to optimise the process and obtain acceptance as a safe alternative to present techniques, especially when injectable products containing fragile bio-molecules are concerned;
- Supercritical fluid sterilisation of bio-medical items (like implants, prostheses or medical instruments) is of special interest at a moment when nosocomial diseases are widespread worldwide;

· Processing pathogen micro-organisms may lead to attenuated or inactivated forms presenting an immunogenic effect, that might be used for vaccine preparation.

## References:

- [1] Witter L.D., Berry J.M., Folinazzo J.F., The viability of *Escherichia coli* and a spoilage yeast in carbonated beverages. *Food Res.*, 23, 1958, pp. 133-142.
- [2] Kauffman F.L., Shank J.L., Urbain W.M., Irradiation with CO<sub>2</sub> under pressure, US patent US 3,483,005, filed 1966.
- [3] Pilz V., Rupp R., Process for rendering solids sterile. German Patent DE 2837115, filed 1978.
- [4] Blickstadt E., Enfors S.O., Molin G., Effect of hyperbaric carbon dioxide pressure on the microbial flora of pork stored at 4 or 14°C. *J. Appl. Bacteriol.*, 50, 1981, pp. 493-504.
- [5] Stahl E., Rau G., Kaltwasser H., High-pressure treatment of microorganisms, *Naturwissenschaften*, 72 (3), 1985, pp.144-145.
- [6] Kobayashi T., Taniguchi M., Kamihiro M., Aki T., Murakami T., Tashiro H., Sterilization of powdery or granular material, Japanese patent JP 62074270, filed 1985.
- [7] Stahl, E., Quirin K.W., Gerard D., Sterilisation. In: *Dense Gases for Extraction and Refining*. Springer Verlag, NY, ISBN 0-387-18158-X, 1986, pp.220-221.
- [8] Kamihiro M., Taniguchi M., Kobayashi T., Sterilization of microorganisms with supercritical carbon dioxide. *Agric. Biol. Chem.*, 51 (2), 1987, pp.407-412.
- [9] Taniguchi M., Suzuki H., Sato M., Kobayashi T., Sterilization of plasma powder by treatment with supercritical carbon dioxide. *Agric. Biol. Chem.*, 51, 1987, pp. 3425-3426.
- [10] Schollmeyer E., Knittel D., Buschmann H.J., Kosfeld R., Disinfecting or sterilizing article by treatment in an autoclave with supercritical fluid. German Pat., DE 3904513, filed 1989.
- [11] Haas G.J., Prescott H.E., Dudley E., Dick R., Hintlian C., Keane L., Inactivation of microorganisms by carbon dioxide under pressure. *J. Food Safety*, 9, 1989, pp. 253-265.
- [12] Wei C.I., Balaban M.O., Fernando S.Y., Peplow A.J., Bacterial Effect of High Pressure CO<sub>2</sub> Treatment on Foods Spiked with *Listeria* or *Salmonella*. *Journal of Food Protection*, Vol.54, No.3, 1991, pp.189-193.
- [13] Castor T.P. and Hong G.T., Critical fluid disruption of microbial cells. In: *Proceed of the 2nd Int. Symposium on Supercritical Fluids*, Ed. Mc Hugh, Boston, 1991, pp.139-142.
- [14] Perrut M., Enzymatic reactions in supercritical carbon dioxide. In: *High Pressure and Biotechnology*, Eds. Balny et al., Colloque INSERM / John Libbey Eurotext Ltd., 224, 1992, pp. 401-409.
- [15] Motta-Meira M., Arul J., Thibault J., Lavoie M., Bactericidal effect of CO<sub>2</sub> under pressure. Fifth Symp. High Pressure and Food Science, La Grande Motte (France), 1992.
- [16] Smelt J.P.P.M. and Rijke G.G.F., High pressure treatment as a tool for pasteurization of foods. In: *High Pressure and Biotechnology*, Eds. Balny et al., Colloque INSERM / John Libbey Eurotext Ltd., 224, 1992, pp. 461-463.
- [17] Cuq J.L., Roussel H., Vivier D., Caron J.P., Effects of gases under pressure : influence on the thermal inactivation of micro-organisms. *Sciences des Aliments*, 13, 1993, pp. 677-698.
- [18] Gruenhoff U., Sylla K.F., Process for degerminating and drying. European patent EP 0 726 716, filed 1993.
- [19] Lin H.M., Yang Z., Chen L.E., Inactivation of *Leuconostoc dextranicum* with carbon dioxide under pressure. *Chem. Eng. J. (Lausanne)*, 52(1), 1993, pp. B29-B34.
- [20] Isenschmid A., Marison I.W., Von Stockar U., The influence of near-critical and supercritical CO<sub>2</sub> on the viability of yeast cells, In: *Proceed. 3rd Int. Symp. Supercritical Fluids*, Strasbourg (France), 1994, Tome 2, pp. 367-370.
- [21] Lin H.M., Cao N.J., Chen L.F., Anti-microbial effect of pressurized carbon dioxide on *Listeria monocytogenes*. *J. Food Sci.*, 59(3), 1994, pp.657-659.
- [22] Kulshreshtha A.K., Smith G.G., Anderson S.D., Krukonis V.J., Process for sizing prednisolone acetate using a supercritical fluid anti-solvent. US Pat. US 5,803,966, filed 1995.
- [23] Osajima Y., Shimoda M., Kawano I., Method for modifying the quality of liquid foodstuff. US pat. US 5,520,943, 1996. Method for inactivating enzymes, microorganisms and spores in a liquid foodstuff. US pat. US 5,667,835, 1996. System for processing liquid foodstuff or liquid medicine with a supercritical fluid of carbon dioxide. US pat. US 5,704,276, filed 1996. US pat. US 5,704,276, 1998.
- [24] Ishikawa H., Shimoda M., Tamaya K., Yonekura A., Kawano I., Inactivation of *Bacillus* spores by the supercritical carbon dioxide micro-bubble method. *Biosci. Biotechn. Biochem.*, 61(6), 1997, pp.1022-1023.
- [25] Sirisee U., Hsieh F., Huff H.E., Microbial safety of supercritical carbon dioxide processes. *J. Food Process. Pres.* 22(5), 1998, pp. 387-403.
- [26] Dillow A.K., Langer R., Foster N., Hrkach J.S., Supercritical fluid sterilization method. US patent US 6,149,864, filed 1998.
- [27] Dillow, A.K., Dehghani F., Hrkach J.S., Foster N.R., Langer R. Bacterial inactivation by using near- and supercritical carbon dioxide. *Proceed. of the Nat. Acad. Sci. USA*, Vol. 96(18), 1999, pp. 10344-8.
- [28] Venturi A., Dellaglio F., Dallacasa V., Pallado P., Bertucco A., Inactivation of some food microorganisms with supercritical carbon dioxide in a semi-continuous flow system. In: *Proceed. CISP99, 5th Conf. On Supercritical Fluids and their Applications*, Garda (Italy), 1999, pp. 335-361.
- [29] Ondrey G., Kaniya T., Pasteurization under pressure. *Chem. Eng.*, June 2000, pp. 26-27.
- [30] Spilimbergo S., Parton T., Bertucco A., Marchese D., Pasteurization of orange juice by supercritical carbon dioxide. In: *Proceed. 4th Int. Symp. High Pressure Technology and Chemical Engineering*, Venice (Italy), 2002, pp. 259-265.
- [31] Spilimbergo S., Elvassore N., Bertucco A., Microbial inactivation by high-pressure. *J. of Supercritical Fluids*, 22, 2002, pp. 55-63.
- [32] Sims M., Estigarribia E., Continuous sterilization of aqueous pumpable food using high pressure carbon dioxide. In: *Proceed. 4th Int. Symp. High Pressure Technology and Chemical Engineering*, Venice (Italy), 2002, pp. 921-926.
- [33] Sims M., Estigarribia E., Membrane carbon dioxide sterilization of liquid foods : Scale-up of a commercial continuous process. In: *Proceed. 5th Int. Symp. Supercritical Fluids*, Versailles (France), 2003, pp. 1457-1460.
- [34] Bothun G.D., Knutson B.L., Strobel H.J., Nobes S.E., Molecular and phase toxicity of compressed and supercritical fluids in biphasic continuous cultures of *Clostridium thermocellum*. *Biotechn. & Bioeng.*, 89(1), 2005, pp. 32-41.
- [35] Spilimbergo S., Bertucco A., Non-thermal bacteria inactivation with dense CO<sub>2</sub>. *Biotechn. & Bioeng.*, 84(6), 2003, pp. 627-638.
- [36] Spilimbergo S., Bertucco A., Lauro F.M., Bertoloni G., Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by supercritical CO<sub>2</sub> treatment. *Innovative Food Scie. & Emerging Technol.*, 4(2), 2003, pp.161-165.
- [37] Parton T., Toniolo C., Elvassore N., Bertucco A., Preservation of nutritive

properties of tomato sauce by high pressure CO<sub>2</sub> pasteurization. In: Proceed. 5th Int. Symp. Supercritical

Fluids, Versailles (France), 2003, pp. 1477-1482

[38] Spilimbergo S., Dehghani F., Bertucco A., Foster N. R., Inactivation of bacteria and spores by pulse electric field and high pressure CO<sub>2</sub> at low temperature.

Biotechn. & Bioeng.,

82(1), 2003, pp. 118-125.

[39] Bach E., Schmidt A., Cleve E., Schollmeyer E., Treatment of textiles in CO<sub>2</sub> – Potentialities and limitations. In: Proceed. 5th Int. Symp. Supercritical Fluids, Versailles (France), 2003, pp. 2095-2100.

[40] Capilla V., Manez M., Moreno Mari J., Jimenez R., Disinfection and disinfection effect of CO<sub>2</sub> under pressure on food matrix. In: Proceed. 5th Int. Symp.

Supercritical Fluids, Versailles

(France), 2003, pp. 1451-1456.

[41] Watanabe T., Furukawa S., Hirata J., Koyama T., Ogihara H., Yamasaki M., Inactivation of *Geobacillus stearothermophilus* spores by high-pressure carbon dioxide treatment. *Appl. & Environ. Microbiol.*, 69(12), 2003, pp. 7124-7129.

[42] Parton T., Elvassore N., Bertucco A., High pressure CO<sub>2</sub> inactivation in food: A multireactor apparatus for inactivation kinetic determination. In: Proceed. 9th Meet. Supercritical

Fluids, Trieste (Italy), 2004, comm. Rv03.

[43] Christensen T.W., Burns D. C., White A.L., Ganem B., Eisenhut A.R., Sterilization methods and apparatus which employ additive-containing supercritical carbon dioxide sterilant. World pat. WO 2005/000364, filed 2004.

[44] Christensen T.W., Inactivating organisms using carbon dioxide at or near its supercritical pressure and temperature conditions. World pat. WO 2005/001059, filed 2004.

[45] Novasterilis web site.

[46] Schmidt A., Beermann K., Bach E., Schollmeyer E., Disinfection of textile materials contaminated with *E. coli* in liquid carbon dioxide. *J. of Cleaner*

*Production*, 13(8), 2005, pp.

881-885.

[47] Van Ginneken L., Van Roy S., Willems L., Elst K., Lodewijckz B., De Cleen M., Inactivation of *Staphylococcus aureus* in liquid whole egg product by means of high-pressure

carbon dioxide. ISSF 2005, Orlando(USA), 2005, abstract 395.

[48] Bach E., Cinquemani C., Schollmeyer E., Disinfection of textile materials in liquid carbon dioxide, ISSF 2005, Orlando(USA), 2005, abstract 36.

[49] Wahl C.L., Matthews M.A., Price R., An Y., Jablonka E., Dense carbon dioxide for medical cleaning applications: Removing *Staphylococcus aureus* from Ti-based surfaces.

ISSF 2005, Orlando (USA), 2005, abstract 128.

[50] Zhang J., Matthews M.A., Dalal N., Fox A., Fox K., Hemmer J., LaBerge M., Drews M., Stump M., Mechanisms of supercritical carbon dioxide sterilization of bacterial spores. AIChE Annual Meeting, Cincinnati (Ohio), Preliminary program, 2005, abstract 27094.

[51] Spilimbergo S., Bertucco A., Basso G., Bertolini G., Determination of extra-cellular and intra-cellular pH of *Bacillus subtilis* suspension under CO<sub>2</sub> treatment.

Biotechn. & Bioeng.,

2005, in press.

[52] Burnouf T., Burnouf M., Bouzidi A., Perrut M., Method for the viral inactivation of plasmatic products using supercritical or subcritical fluids, European patent EP 0

656 055,

filed 1992.

[53] Bouzidi A., Perrut M., Majewski W., Viral Inactivation and Delipidation of Plasma and Plasma Products: New Development and Experience of Supercritical Fluids. In: Proceed. 4th

International Symposium on Supercritical Fluids, Sendai, Japan, 1997, Vol. A, pp. 387-390.

[54] Bouzidi A., Majewski W., Hober D. and Perrut M., Supercritical fluids improve tolerance and viral safety of fresh frozen plasma. In: Proc. of the 5th Meeting on Supercritical Fluids, Nice, France, March 1998, Perrut M. & Reverchon E. (Edts), ISBN 2-905-267-33- 10, pp. 717-722.

[55] Castor T.P., Lander A.D., Viral inactivation method. European patent EP 0 629 135, filed 1993.

[56] Castor T.P., Lander A.D., Cosman M. D., D'Entremont P.R., Pelletier M.R., Viral inactivation method using near critical, supercritical or critical fluids. US patent 5,877,005, filed 1995.

[57] Castor T.P., Lander A.D., Methods and apparatus for the inactivation of viruses. US patent 6,465,168, filed 1999.

[58] Aphios Corp. web site, Pathogen inactivation.

[59] Fages J., Frayssinet P., Method for anti-viral treatment of biological tissues with collagenic structure. European patent EP 0 748 632, filed 1995.

[60] Fages J., Jean E., Frayssinet P., Mathon D., Poirier B., Autefage A., Larzul D., Bone allografts and supercritical processing: effects on osteointegration and viral safety. *J. supercritical Fluids* 13, 1998, pp. 351-356.

[61] Fages J., Poirier B., Barbier Y., Frayssinet P., Joffret M.L., Majewski W., Bonel G., Larzul D., Viral inactivation of human bone tissue using supercritical fluid extraction. *ASAIO J.*, 44, 1998, pp. 289-293.

[62] Jean E., Application des fluides supercritiques au traitement de greffons osseux. In : *Fluides Supercritiques et Matériaux*, F. Cansell ed., ISBN 2-905-267-31-3, 1999, pp. 327- 346.

[63] Spilimbergo S., Benuzzi M., Quaranta A., Della Mea G., In-situ monitoring of microorganisms viability evaluated by cell fluorescent staining during CO<sub>2</sub> pasteurization treatment. In: Proceedings of the 8th conference on supercritical fluids and their applications, Ischia, Italy, May 2006, Edt. Reverchon E., pp. 373-377.

[64] Zhang J., Burrows S., Matthews M.A., Drews M.J., Laberge M., An Y.N., Sterilizing *Bacillus pumilus* spores using supercritical carbon dioxide. *J. of Microbiological methods*, 2006, in press.

[65] Zhang J., Dalal N., Gleason C., Matthews M.A., Waller L.N., Fox K.F., Fox A., Drews M.J., Laberge M., An Y.N., On the mechanism of deactivation of *Bacillus atrophaeus* spores using supercritical carbon dioxide. *J. of Supercritical Fluids*, 2006, in press.

[66] Matthews M.A., Zhang J., Drews M.J., LaBerge M., An Y.K., Mechanisms of supercritical carbon dioxide sterilization of bacterial spores. In: Proceedings of the 8th conference on supercritical fluids and their applications, Ischia, Italy, May 2006, Edt. Reverchon E., pp. 317-320.

[67] Cinquemani C., Bach E., Schollmeyer E., Boyle C., Inactivation of microbes using compressed carbon dioxide – an environmentally sound disinfection process. In: Proceedings of the 8th conference on supercritical fluids and their applications, Ischia, Italy, May 2006, Edt. Reverchon E., pp. 249-252.

[68] Castor T.P., Ilyinskii P.O., Lalloos L., Inactivated vaccines for AIDS and other infectious diseases. US patent 7,033,813, filed 2002.

## Nuevo curso Better Process Control School BPCS 2012

Entre los días 19 a 23 de Noviembre de 2012 se celebró en Murcia el III Curso BPCS organizado por el Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación, el Instituto de Fomento de la Región de Murcia y el Colegio de Químicos de la Región de Murcia. Las otras dos ediciones se celebraron en 2000 y en 2002. El CTC ha organizado otros tres cursos en Oporto (Portugal), San Adrián (Navarra) y Madrid y está organizando una nueva edición que se celebrará en Bucarest (Rumania) en 2013. En todos ellos la entidad que ha impartido el curso ha sido la Washington State University de Estados Unidos, actuando como ponente el Dr. Richard Dougherty, especialista y profesor en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

de la Escuela de Ciencia de los Alimentos de dicha Universidad.

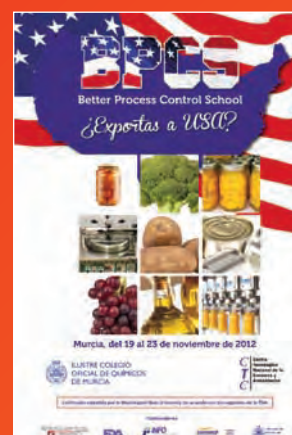
El principal motivo para la celebración de este curso ha sido que la nueva Acta de Modernización de Seguridad Alimentaria FDA USA impone dos nuevos requerimientos a las empresas que exportan alimentos, bebidas y suplementos dietéticos a los Estados Unidos:

- Renovar en 2012 el Registro FDA de Instalaciones Alimentarias y a partir de 2012 hacerlo cada dos años
- Consentir las inspecciones de la FDA, que pasarán de 600 en 2011 a 19200 en 2016.

Para adecuar las empresas a estos requerimientos es conveniente que en cada turno de fabricación haya un técnico que haya obteni-

do el título de Autoridad de Proceso realizando este Curso BPCS (Better Process Control School) aprobado por la FDA USA.

La importancia de la celebración de este curso en España se pone de manifiesto al representar Estados Unidos el sexto destino mundial de la exportación y el primero extracomunitario para España, lo que supone un 3,68% del total durante el año 2011. Durante el primer cuatrimestre del año 2012 las exportaciones de alimentos crecieron un 15,19%, hasta alcanzar los € 230,87 millones. El sector de bebidas también creció y, entre enero y abril, las exportaciones superaron la barrera de los € 84 millones, un 6% que durante el mismo periodo de 2011. De las exportaciones totales a Estados Unidos en 2011, más de €



942 millones corresponden a alimentos y bebidas, lo que refleja un avance del 3,5% y entre los productos mejor considerados entre los consumidores destacan los hortalizas, los vinos, el aceite, la panadería y los lácteos. Fuente ICEX Agosto 2012. Técnicos de dieciséis empresas de toda España han conseguido su reconocimiento como Autoridad de Proceso en esta edición del Curso.

## PROYECTO DE FORMACIÓN EN CALARASI (RUMANIA)



En el proyecto social europeo "Encuentra un Trabajo!" desarrollado por el Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo de Biorecursos Alimentarios (IBA Bucarest), cerca de 35 jóvenes participaron en Calarasi en una sesión de formación celebrada por expertos del Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación, CTC que es el socio transnacional en el proyecto europeo.

El seminario se desarrolló en Calarasi (Rumania) entre los días 27 y 28 de noviembre de 2012 y se trataron temas de confitería y panadería, IBA y CTC desarrollan este proyecto formativo dedicado a la formación y el desarrollo profesional de las decenas de personas que buscan un empleo (especialmente las mujeres) en la región rumana de Sud-Muntenia a la que

pertenece la ciudad de Calarasi.

El objetivo del proyecto es mejorar el nivel de empleo en esta región rumana desarrollando y poniendo en práctica de forma integrada (activa, preventiva, innovadora y flexible) acciones de información, asesoramiento, formación y promoción que mejoren las capacidades del capital humano de estas zonas rurales y urbanas.

El seminario de finales de noviembre contó con la participación del socio español, el CTC, que presentó a los participantes seleccionados de entre el grupo objetivo información útil sobre la alimentación en España. Se incluyeron temas sobre normas de calidad para los productos de confitería y panadería, legislación de la UE, etc.

## Carlos Herrera en las instalaciones de Hero España

El pasado 12 de diciembre tuvo lugar, en las instalaciones de Hero España, el programa de Herrera en la Onda... Qué mejor manera de celebrar el 90 Aniversario de Hero!

Durante más de seis horas de radio, pasaron personajes ilustres de la Región de Murcia, como fue el caso de Lázaro Mellado Sánchez, Alcalde de Alcantarilla o Ramón Luis Valcarcel Siso, Presidente de la Región de Murcia.

Tras el contenido político, tuvo lugar el debate científico. Se contó con la participación del Dr. Gaspar Ros Berruero, Catedrático de

Bromatología y Nutrición de la Universidad de Murcia y Dr. Pedro Abellán Ballesta, Presidente del Instituto de Nutrición Hero Baby. Se destacó la importancia de una correcta alimentación infantil para un desarrollo saludable y como se implican y contribuyen empresas como Hero España en la prevención de la creciente obesidad infantil.

Con la participación de Sergio Elizalde, Director General de Hero España, se hizo un breve recorrido por la historia de la empresa a lo largo de sus 90 años, además de explicar la acción de "Tarritos



de la Felicidad", iniciativa que llevamos a cabo a cabo con el Banco de alimentos, con el fin de ayudar a los más necesitados.

## The International Conference of the University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest

Agriculture for life, life for agriculture  
June 5 - 8, 2013,  
Bucharest, Romania



The International Conference of the University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest  
AGRICULTURE FOR LIFE, LIFE FOR AGRICULTURE  
June 5 - 8, 2013, Bucharest, Romania



### Conference Announcement

#### ABOUT THE CONFERENCE

We are very honored to invite you to participate in the Second Edition of the International Conference "Agriculture for Life - Life for Agriculture", an event initiated by the University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, to be held in Bucharest, Romania, between 05<sup>th</sup> and 08<sup>th</sup> of June 2013.

We live in a time of great challenges for agriculture, including energy, climate change, the environment, food safety and nutrition, health, rural development and trade. These are challenges not only for agriculture but also for education and agricultural research, and will not be resolved without major advances in research and innovation. Therefore, the University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest aims to continue its annual meetings on life sciences and social sciences, offering researchers, business leaders, government and EU officials the opportunity to share their innovative ideas and research results in order to scientifically address global challenges.

Considering the large impact and enormous interest in the first edition of the International Conference "Agriculture for Life - Life for Agriculture", we are dedicated to continue to provide you, researchers and professionals, with the opportunity to build new connections and partnerships by offering a unique insight into the most recent agricultural research and development, and further promoting the development of agriculture in the future.

#### CONFERENCE OUTLINE

The program will cover a vast range of topics through Plenary Sessions, Thematic Sessions, Poster Sessions, Workshops, Industry/Business Meetings, Professional Tours. Participants are invited to submit papers under the sections below:

#### SECTIONS

- Section 1 - Agronomy
- Section 2 - Horticulture
- Section 3 - Animal science
- Section 4 - Veterinary medicine
- Section 5 - Land reclamation, Earth observation & surveying, environmental engineering
- Section 6 - Biotechnology
- Section 7 - Management and economics in rural area

#### IMPORTANT DATES

- 01.01.2013: Online registration and abstract submission
- 01.02.2013: Abstract submission deadline
- 10.03.2013: Paper submission deadline
- 11.03-25.04.2013: Paper's peer review
- 26.04-06.05.2013: Payment of registration fee
- 05-08.06.2013: Conference

#### PRELIMINARY PROGRAM

- 05.06.2013: Welcoming of the participants
- 06.06.2013: Registration
  - Opening Plenary Session
  - Keynote speakers, Plenary Session
  - Festive Dinner
- 07.06.2013: Topics by Section
- 08.06.2013: Conference Professional Tour
  - Conference Tourist Tour

#### REGISTRATION FEES

Standard registration fee:  
- 75 EUR or equivalent in RON

Registration fee for students (BSc, MSc, PhD):  
- 35 EUR or equivalent in RON

Accompanying person:  
- 45 EUR or equivalent in RON

#### LANGUAGE OF CONFERENCE

English

#### CONTACT

University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest  
59 Hărăști Blvd.  
011464, Bucharest, Romania  
E-mail: [agricultureforlife@uasvm.ro](mailto:agricultureforlife@uasvm.ro)  
Website: <http://agricultureforlife.uasvm.ro>



# Referencias bibliográficas



**Marian Pedrero Torres**  
Departamento  
de Documentación CTC

## Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers

Michael P. Doyle, Robert L. Buchanan. Amer Society for Microbiology 2013, 1020 pgs, ISBN-10: 1555811175



This essential reference emphasizes the molecular and mechanistic aspects of food microbiology in one comprehensive volume. Addresses the field's major concerns, including spoilage, pathogenic bacteria, mycotoxigenic molds, viruses, prions, parasites, preservation methods, fermentation, beneficial microorganisms, and food safety. Details the latest scientific knowledge and concerns of food microbiology

Offers a description of the latest and most advanced techniques for detecting, analyzing, tracking, and controlling microbiological hazards in food. Serves as significant reference book for professionals who conduct research, teach food microbiology courses, analyze food samples, conduct epidemiologic investigations, and craft food safety policies.



## Proteomics in Foods: Principles and Applications

Toldrá, Fidel; Nollet, Leo M. L. (Eds.). Springer-Verlag ,2013, XVII, 589 p.. ISBN 978-1-4614-5626-1

This book provides readers with the recent advances and state-of-the-art in food proteomics, which constitutes one of the most relevant and rapidly developing

areas in food science. The first part covers the principles of proteomics, including an in-depth discussion of the proteome, as well as the extraction and fractionation techniques for proteins and peptides, separation techniques like 2-D electrophoresis and chromatography, and mass spectrometry applications. The second part covers applications to foods, such as quality issues related with post-mortem processes in animal foods, and quality traits for a wide variety of foods like meat, fish, dairy, eggs, wine, beer, cereals, fruits and vegetables. Also discussed are the identification of bioactive peptides and proteins, crucial from a nutritional perspective, and safety issues like food authenticity, detection of animal species in the food, markers of pathogen microorganisms, and identification of prions.



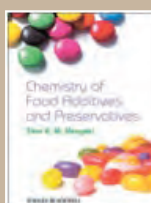
## HACCP: A Practical Approach

Mortimore, Sara, Wallace, Carol. 3rd ed. Springer-Verlag GmbH, . 2013, XXX, 478 p. ISBN 1461450276

- Includes the current best practice and new developments in HACCP
- Updated pathogen profiles include pathogen

growth and survival characteristics

• Useful for both developing a new HACCP system, or strengthening an existing one HACCP: A Practical Approach, 3<sup>rd</sup> edition has been updated to include the current best practice and new developments in HACCP application since the last edition was published in 1998. This book is intended to be a compendium of up-to-date thinking and best practice approaches to the development, implementation, and maintenance of HACCP programs for food safety risk reduction.



## The Chemistry of Food Additives and Preservatives

Titus A.M. Msagati. Wiley-Blackwell, 2012, 336 pgs, ISBN-10: 1118274148

The Chemistry of Food Additives and Preservatives is an up-to-date reference guide on the range of different types of additives (both natural and

synthetic) used in the food industry today. It looks at the processes involved in inputting additives and preservatives to foods, and the mechanisms and methods used. The book contains full details about the chemistry of each major class of food additive, showing the reader not just what kind of additives are used and what their functions are, but also how they work and how they can have multiple functionalities. In addition, this book covers numerous new additives currently being introduced, and an explanation of how the quality of these is ascertained and how consumer safety is ensured.



## Guía para la correcta utilización y consumo de aditivos alimentarios

M<sup>a</sup> del Mar Abad García y M<sup>a</sup> Manuela Ruiz Portero. Circulo Rojo, 2012, 206 pgs, ISBN: 978-84-9030-467-9

La normativa de aditivos alimentarios está en un periodo de transición, consecuencia, en primer

lugar a la necesidad de adaptación de la legislación de los estados miembros en esta materia al nuevo marco normativo europeo, que entró en vigor con el "Paquete de agentes de mejora de los alimentos". Y consecuencia también, a la implementación del programa de reevaluación de los aditivos alimentarios autorizados, impuesto por el Reglamento (UE) n° 257/2010.



## Jamón Ibérico y Serrano. Fundamentos de la elaboración y de la calidad

Jesús VENTANAS BARROSO, Mundi Prensa, 2012, 198 pgs, ISBN 10: 8484764745

En este libro se aportan los conocimientos actuales sobre los factores que intervienen en la calidad del jamón; como premisa para abordar las estrategias de mejora, establecer los parámetros de control o las diferencias entre nuestros jamones (Ibérico y Serrano) y los elaborados en otros países. Así como el poder ofrecer al consumidor nuevos formatos (deshuesados, loncheados) y una correcta información nutricional en el etiquetado.

# Referencias legislativas

► **Ley 11/2012, de 19 de diciembre**, de medidas urgentes en materia de medio ambiente. BOE 20/12/2012

► **Reglamento (UE) n° 1183/2012 de la Comisión, de 30 de noviembre de 2012**, por el que se modifica y corrige el Reglamento (UE) n° 10/2011, sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. DOUE 12/12/2012

► **Resolución de 20 de noviembre de 2012**, de la Secretaría de Estado de Investigación, Desarrollo e Innovación, por la que se aprueba la convocatoria del año 2013 para la concesión de las ayudas correspondientes al Programa Nacional de Redes - subprograma INNFLUYE, dentro de la línea instrumental de articulación e internacionalización del sistema, en el marco del Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica, 2008-2011. BOE 11/12/2012

► **Reglamento (UE) n° 1147/2012 de la Comisión, de 4 de diciembre de 2012**, por el que se modifica el anexo II del Reglamento (CE) n° 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo con respecto a la utilización de cera de abeja (E 901), cera de carnauba (E 903), goma laca (E 904) y cera microcristalina (E 905) en determinadas frutas. DOUE 05/12/2012

► **Reglamento (UE) n° 1148/2012 de la Comisión, de 4 de diciembre de 2012**, que modifica el anexo II del Reglamento (CE) n° 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo en cuanto a la utilización de dióxido de azufre y de sulfitos (E 220 a 228) y de alginato de propano-1,2-diol (E 405) en bebidas fermentadas a base de mosto de uva. DOUE 05/12/2012

► **Reglamento (UE) n° 1149/2012 de la Comisión, de 4 de diciembre de 2012**, que modifica el anexo II del Reglamento (CE) n° 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo en cuanto a la utilización de los extractos de romero (E 392) en rellenos de pasta seca. DOUE 05/12/2012

► **Reglamento (UE) n° 1057/2012 de la Comisión, de 12 de noviembre de 2012**, por el que se modifica el anexo II del Reglamento (CE) n° 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a la utilización del dimetilpolisiloxano (E 900) como antiespumante en complementos alimenticios. DOUE 13/11/2012

► **Reglamento (UE) n° 1058/2012 de la Comisión, de 12 de noviembre de 2012**, por el que se modifica el Reglamento (CE) n° 1881/2006 en lo que respecta al contenido máximo de aflatoxinas en los higos secos. DOUE 13/11/2012

► **Reglamento (UE) n° 1047/2012 de la Comisión, de 8 de noviembre de 2012**, por el que se modifica el Reglamento (CE) n° 1924/2006 en lo relativo a la lista de declaraciones nutricionales. DOUE 09/11/2012

► **Reglamento (UE) n° 1048/2012 de la Comisión, de 8 de noviembre de 2012**, sobre la autorización de una declaración de propiedades saludables en los alimentos relativa a la reducción del riesgo de enfermedad. DOUE 09/11/2012

► **Reglamento (UE) n° 1049/2012 de la Comisión, de 8 de noviembre de 2012**, por el que se modifica el anexo II del Reglamento (CE) n° 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a la utilización del jarabe de poliglicitol en determinadas categorías de alimentos. DOUE 09/11/2012

► **Reglamento (UE) n° 1050/2012 de la Comisión, de 8 de noviembre de 2012**, que modifica el Reglamento (UE) n° 231/2012, por el que se establecen especificaciones para los aditivos alimentarios que figuran en los anexos II y III del Reglamento (CE) n° 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo al jarabe de poliglicitol. DOUE 09/11/2012



¿QUIERE ESTAR AL DÍA EN LA LEGISLACIÓN QUE APLICA A SU EMPRESA?

## SERVICIO DE LEGISLACIÓN ALIMENTARIA A MEDIDA

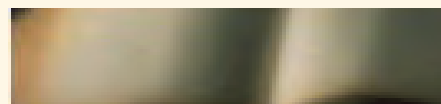
Las administraciones, los clientes y las nuevas exigencias de los sistemas de calidad obligan a las empresas a tener definida y puesta al día la legislación que les aplica.

El Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación pone a su disposición el servicio de legislación alimentaria a medida.

Su empresa mantendrá organizado y controlado el complejo sistema de legislación que se publica a nivel regional, nacional y europeo. Estará al tanto de cualquier novedad, adelantándose así a los requerimientos y anticipándose a los cambios.

*Si está interesado en este servicio puede solicitar presupuesto sin compromiso.*

**Marian Pedrero. Dpto de Documentación CTC**  
**Mail:** marian@ctnc.es



# Asociados

## Empresas asociadas al Centro Tecnológico

- ▶ ACEITUNAS CAZORLA, S.L.
- ▶ AGARCAM, S.L.
- ▶ AGRICONSA
- ▶ AGRO SEVILLA ACEITUNAS, S.C.A.
- ▶ AGRUCAPERS, S.A.
- ▶ ALCAPARRAS ASENSIO SÁNCHEZ
- ▶ ALCURNIA ALIMENTACIÓN, S.L.U.
- ▶ AGRÍCOLA Y FORESTAL DE NERPIO S.C.C.M.
- ▶ ALIMENTARIA ANDARAX, S.L.
- ▶ ALIMENTARIA BARRANDA, S.L.
- ▶ ALIMENTOS PREPARADOS NATURALES, S.A.
- ▶ ALIMENTOS VEGETALES, S.L.
- ▶ ALIMINTER, S.A. - [www.aliminter.com](http://www.aliminter.com)
- ▶ ALIMER, S.A.
- ▶ AMC Grupo Alimentación Fresco y Zumos, S.A.
- ▶ ANTONIO RÓDENAS MESEGUER, S.A.
- ▶ AURUM FOODS, S.L.
- ▶ AUXILIAR CONSERVERA, S.A.  
[www.auxiliarconservera.es](http://www.auxiliarconservera.es)
- ▶ BERNAL MANUFACTURADOS DEL METAL, S.A. (BEMASA)
- ▶ CHAMPINTER, SOC. COOP.
- ▶ CHAMPIÑONES SORIANO, S.L.
- ▶ CITRUS LEVANTE, S.L. (VERDIFRESH)
- ▶ COÁGUILAS
- ▶ COATO, SDAD.COOP.LTDA. - [www.coato.com](http://www.coato.com)
- ▶ COFRUSA - [www.cofrusa.com](http://www.cofrusa.com)
- ▶ COFRUTOS, S.A.
- ▶ CONGELADOS PEDÁNEO, S.A. - [www.pedaneo.es](http://www.pedaneo.es)
- ▶ CONSERVAS ALGUAZAS, S.L.
- ▶ CONSERVAS ALHAMBRA
- ▶ CONSERVAS EL RAAL, S.C.L.
- ▶ CONSERVAS HOLA, S.L.
- ▶ CONSERVAS HUERTAS, S.A. - [www.camerdata.es/huertas](http://www.camerdata.es/huertas)
- ▶ CONSERVAS LA GRANADINA, S.L.
- ▶ CONSERVAS MARTINETE
- ▶ CONSERVAS MARTÍNEZ GARCÍA, S.L. - [www.cmgsi.com](http://www.cmgsi.com)
- ▶ CONSERVAS MARTÍNEZ, S.A.
- ▶ CONSERVAS MIRA - [www.serconet.com/conservas](http://www.serconet.com/conservas)
- ▶ CONSERVAS MORATALLA, S.A.  
[www.conservasmoratalla.com](http://www.conservasmoratalla.com)
- ▶ CYNARA EU, S.L.
- ▶ ESTRELLA DE LEVANTE, FÁBRICA DE CERVEZA, S.A.
- ▶ EUROCAVIAR, S.A. - [www.euro-caviar.com](http://www.euro-caviar.com)
- ▶ F.J. SÁNCHEZ SUCESORES, S.A.
- ▶ FAROLIVA, S.L. - [www.faroliva.com](http://www.faroliva.com)
- ▶ FILIBERTO MARTÍNEZ, S.A.
- ▶ FRANCISCO JOSÉ SÁNCHEZ FERNÁNDEZ, S.A.
- ▶ FRANCISCO MARTÍNEZ LOZANO, S.A.
- ▶ FRANMOSAN, S.L. - [www.franmosan.es](http://www.franmosan.es)
- ▶ FRIPOZO, S.A.
- ▶ FRUTAS ESTHER, S.A.
- ▶ FRUTAS FIESTA, S.L.
- ▶ FRUYPER, S.A.
- ▶ GLOBAL ENDS, S.A.
- ▶ GLOBAL SALADS, LTD.
- ▶ GOLDEN FOODS, S.A. - [www.goldenfoods.es](http://www.goldenfoods.es)
- ▶ GOLOSINAS VIDAL, S.A.
- ▶ GÓMEZ Y LORENTE, S.L.
- ▶ GONZÁLEZ GARCÍA HNOS, S.L. - [www.sanful.com](http://www.sanful.com)
- ▶ GOURMET MEALS, S.L.
- ▶ HELIFRUSA - [www.helifrusa.com](http://www.helifrusa.com)
- ▶ HERO ESPAÑA, S.A. - [www.hero.es](http://www.hero.es)
- ▶ HIJOS DE ISIDORO CALZADO, S.L.  
[www.conservas-calzado.es](http://www.conservas-calzado.es)
- ▶ HIDA ALIMENTACIÓN, S.A. - [www.hida.es](http://www.hida.es)
- ▶ HORTÍCOLA ALBACETE, S.A.
- ▶ HORTOFRUTÍCOLA COSTA DE ALMERÍA S.L.
- ▶ HRS HEAT EXCHANGERS, S.L.U.  
<http://www.hrs-heatexchangers.com>
- ▶ JAKE, S.A.
- ▶ JOAQUÍN FERNÁNDEZ E HIJOS, S.L.
- ▶ JOSÉ AGULLÓ DÍAZ E HIJOS, S.L.  
[www.conservasagullo.com](http://www.conservasagullo.com)
- ▶ JOSÉ ANTONIO CARRATALÁ PARDO
- ▶ JOSÉ CARRILLO E HIJOS, S.L.
- ▶ JOSÉ MANUEL ABELLÁN LUCAS
- ▶ JOSÉ MARÍA FUSTER HERNÁNDEZ, S.A.
- ▶ JOSÉ SÁNCHEZ ARANDA, S.L.
- ▶ JOSÉ SANDOVAL GINER, S.L.
- ▶ JUAN PÉREZ MARÍN, S.A. - [www.jupema.com](http://www.jupema.com)
- ▶ JUAN Y JUAN INDUSTRIAL, S.L.U. - [www.dulcesol.es](http://www.dulcesol.es)
- ▶ JUVER ALIMENTACIÓN, S.A. - [www.juver.com](http://www.juver.com)
- ▶ LIGACAM, S.A. - [www.ligacam.com](http://www.ligacam.com)
- ▶ MANUEL GARCÍA CAMPOY, S.A. - [www.milafruit.com](http://www.milafruit.com)
- ▶ MANUEL LÓPEZ FERNÁNDEZ
- ▶ MANUEL MATEO CANDEL - [www.mmcandel.com](http://www.mmcandel.com)
- ▶ MARÍN GIMÉNEZ HNOS, S.A. - [www.maringimenez.com](http://www.maringimenez.com)
- ▶ MARTÍNEZ NIETO, S.A. - [www.marnys.com](http://www.marnys.com)
- ▶ MEDITERRÁNEA DE ENSALADAS, S. COOP.
- ▶ MENSAJERO ALIMENTACIÓN, S.A.  
[www.mensajeroalimentacion.com](http://www.mensajeroalimentacion.com)
- ▶ MIVISA ENVASES, S.A. - [www.mivisa.com](http://www.mivisa.com)
- ▶ MULEÑA FOODS, S.A.
- ▶ NANTA, S.A.
- ▶ NUBIA ALIMENTACIÓN, S.L.
- ▶ PATATAS FRITAS RUBIO, S.C.L.
- ▶ PEDRO GUILLÉN GOMARIZ, S.L. - [www.soldearchena.com](http://www.soldearchena.com)
- ▶ POLGRI, S.A.
- ▶ POSTRES Y DULCES REINA, S.L.
- ▶ PREMIUM INGREDIENTS, S.L.
- ▶ PRODUCTOS BIONATURALES CALASPARRA, S.A.
- ▶ PRODUCTOS JAUJA, S.A. - [www.productosjauja.com](http://www.productosjauja.com)
- ▶ PRODUCTOS QUÍMICOS J. ARQUES
- ▶ PRODUCTOS SUR, S.L.
- ▶ PRODUCTOS VEGATORIO, S.L.L.
- ▶ SAMAFRU, S.A. - [www.samafru.es](http://www.samafru.es)
- ▶ SOCIEDAD AGROALIMENTARIA PEDROÑERAS, S.A.
- ▶ SOGESOL, S.A.
- ▶ SUCESORES DE ARTURO CARBONELL, S.L.
- ▶ SUCESORES DE JUAN DÍAZ RUIZ, S.L. - [www.fruysol.es](http://www.fruysol.es)
- ▶ SUCESORES DE LORENZO ESTEPA AGUILAR, S.A.  
[www.eti.co.uk/industry/food/san.lorenzo/san.lorenzo1.htm](http://www.eti.co.uk/industry/food/san.lorenzo/san.lorenzo1.htm)
- ▶ TECNVS, S.L.
- ▶ TECNOCAP
- ▶ TECNOLOGÍAS E INNOVACIONES DEL PAN  
[www.jomipsa.es/tecnopan](http://www.jomipsa.es/tecnopan)
- ▶ ULTRACONGELADOS AZARBE, S.A.
- ▶ VEGETALES CONGELADOS, S.A.
- ▶ ZUKAN, S.L.



CTCdifusión

## En el CTC le ayudamos en el nuevo etiquetado de sus productos

La publicación del **Reglamento 1169/2011 sobre información alimentaria facilitada al consumidor** consolida y actualiza dos campos de la legislación en materia de etiquetado: el del etiquetado general de los productos alimenticios, regulado por la directiva 2000/13/CE, y el del etiquetado nutricional, objetivo de la directiva 90/496/CEE, e introduce algunos cambios tanto en los controles como en las etiquetas siendo obligatoria la información nutricional para la mayoría de los alimentos.

Desde el CTC y con el objetivo de apoyar a su empresa en referencia a este nuevo reglamento les ofrecemos los siguientes servicios:

### ASESORAMIENTO EN REQUISITOS GENERALES DE ETIQUETADO

- Consultas relacionadas con la elaboración de etiquetas.
- Alimentos exentos de etiquetado nutricional.
- Nuevas definiciones.
- Nuevos principios.
- Alérgenos.
- Qué debe aparecer en el etiquetado y cómo debe aparecer.
- Con respecto al etiquetado nutricional: la parte obligatoria, la parte voluntaria, ingestas de referencia, expresión porción unidad, etc.

### ANÁLISIS DE PARÁMETROS NUTRICIONALES

- CTC viene analizando los parámetros del etiquetado Tipo I y II establecidos en el anterior reglamento de etiquetado RD930/1992 así como los parámetros del etiquetado FDA y correspondiente etiqueta en su apartado "Nutrition Facts".
- La analítica abarca todos los parámetros de información nutricional tanto obligatorios como opcionales incluidos en la nueva normativa.
- Valor energético
  - Grasas
  - Grasas saturadas
  - Hidratos de carbono
  - Azúcares
  - Proteínas
  - Sal

Además ofrecemos servicios de consultoría para el etiquetado nutricional obligatorio para la exportación de acuerdo con la FDA.

### Para más información pueden dirigirse a:

- Jenaro Garre:  
[jenaro@ctnc.es](mailto:jenaro@ctnc.es)  
(Dpto. de Analítica)
- Presentación García:  
[sese@ctnc.es](mailto:sese@ctnc.es)  
(Dpto. de Tecnología)
- Marian Pedrero:  
[marian@ctnc.es](mailto:marian@ctnc.es)  
(Dpto. de Documentación)

**Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación**

Tlf. 968389011  
<http://www.ctnc.es>

# Vender más, innovando

# directTto



## Espacio **Tecnológico** Regional

[www.directtomurcia.es](http://www.directtomurcia.es)

La solución tecnológica para tu pyme

[www.institutofomentomurcia.es](http://www.institutofomentomurcia.es)



Consejería de Universidades, Empresa e Investigación



## *New approaches to tackle obesity!*

# Satin

Satiety Innovation

- A sandwich, a cereal snack, roast pork with dumplings or a Spanish tomato soup. Which foods accelerate satiation (feeling full) and suppress hunger?
- The SATIN - SATiety INnovation project employs novel food processing methods to modify food structures to produce functional foods for weight management.
- SATIN is a five year €6 million project funded by the EU. The team involves seven Small and Medium-Sized Enterprises (SMEs), four industry and seven academic partners.

The SATIN consortium includes Axxam, BioActor, CTAEX, CTC, NIZO, RTD Services and ProDigest, Cargill, Coca-Cola, Juver and Naturex, Universities of Aberdeen, Copenhagen, Leeds, Liverpool, Murcia, Rovira i Virgili, and the Karolinska Institute. The project is co-ordinated by the University of Liverpool ([j.c.g.halford@liverpool.ac.uk](mailto:j.c.g.halford@liverpool.ac.uk)).

Find us on

To find out more information: [www.satin-satiety.eu](http://www.satin-satiety.eu)



Funded by the 7th Framework Programme of the European Union, FP7 - Knowledge based Bio-Economy, Collaborative Project, Grant agreement number: 289800 KBBE.2011.2.3-04: Satiety control through food structures made by novel processing - Food, Agriculture and Fisheries, and Biotechnology

