



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA**

**TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN:
“MÉTODOS PARA EVALUAR LA EFECTIVIDAD DE
CONSERVADORES ALIMENTARIOS”**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA DE ALIMENTOS

**PRESENTA
DANIELA SAENZ LÓPEZ**

CDMX

2024





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: MARIA DE LOURDES GOMEZ RIOS

VOCAL: ALEIDA MINA CETINA

SECRETARIO: ARGELIA SANCHEZ CHINCHILLAS

1ER. SUPLENTE: ESMERALDA PAZ LEMUS

2° SUPLENTE: ZAIRA BERENICE GUADARRAMA ALVAREZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Bibliotecas Facultad de Química, UNAM. Ciudad Universitaria. Coyoacán. CP.
04510.

ASESOR DEL TEMA:

M. C. Argelia Sánchez Chinchillas

SUSTENTANTE:

Daniela Saenz López

ÍNDICE GENERAL

1. Abreviaturas.....	5
2. Resumen.....	7
3. Introducción.....	8
4. Justificación.....	10
5. Objetivos.....	11
6. Enfermedades Transmitidas por Alimentos.....	12
6.1 Microorganismos patógenos importantes en la industria alimentaria	
6.1.1 <i>Clostridium botulinum</i>	
6.1.2 <i>Escherichia coli</i>	
6.1.3 <i>Salmonella</i> spp.	
6.1.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	
6.1.5 <i>Listeria monocytogenes</i>	
6.1.6 <i>Campylobacter jejuni</i>	
6.1.7 <i>Bacillus cereus</i>	
6.1.8 <i>Shigella</i> spp.	
6.1.9 Bacterias entéricas oportunistas	
6.2 Microorganismos de deterioro	
7. Aditivos alimentarios.....	21
7.1 Conservadores	
7.1.1 Antimicrobianos	
7.1.2 Agentes antimicóticos, y agentes fungistáticos, agentes inhibidores de mohos y hongos filamentosos	
7.1.3 Agentes de control bacteriófagos	
7.1.4 Sinergistas antimicrobianos	
7.2 Conservadores más usados	
7.2.1 Sorbato de potasio	
7.2.2 Benzoato de Sodio	
7.2.3 Propionato de Sodio	
7.2.4 Nitrito de Sodio	
7.3 Tendencias en conservadores	
7.3.1 Conservadores naturales	

7.3.2	Percepción los consumidores con respecto al uso de conservadores en alimentos	
7.4	Nuevas tecnologías	
7.5	Legislación en materia de aditivos alimentarios	
7.5.1.	Legislación a nivel Internacional	
7.5.2	Legislación en México	
8.	Concentración mínima inhibitoria y Concentración mínima bactericida.....	37
8.1	Pruebas antimicrobianas	
8.1.1	Difusión en agar	
8.1.2	Dilución en agar	
8.1.3	Macrodilución en caldo	
8.1.4	Microdilución en caldo	
8.1.5	Épsilon test (E test)	
8.1.6	Métodos automatizados	
9.	Consideraciones en la elección de conservador para un producto alimenticio.....	48
9.1	Características intrínsecas	
9.2	Características extrínsecas	
10.	Discusión.....	51
10.1	Búsqueda bibliográfica	
10.2	Resultados	
11.	Conclusiones.....	54
12.	Bibliografía.....	55
13.	Anexos.....	67

1. ABREVIATURAS

ATCC- *American Type Culture Collection* (Colección Americana de Cultivos Tipo.)

COFEPRIS- Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios

CMI- Concentración Mínima Inhibitoria

CMB- Concentración Mínima Bactericida

CEMAR- Comisión de Evidencia y Manejo de Riesgos

DOF- Diario Oficial de la Federación

EHEC- *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (*Escherichia coli* Enterohemorrágica)

EIEC- *Enteroinvasive Escherichia coli* (*Escherichia coli* Enteroinvasiva)

EPEC-*Enteropathogenic Escherichia coli* (*Escherichia coli* Enteropatógena)

ETA- Enfermedad Transmitida por Alimentos

ETEC- *Enterotoxigenic Escherichia coli* (*Escherichia coli* Enterotoxigénica)

FDA- *Food and Drugs Administration* (Administración de Alimentos y Medicamentos)

FSIS-*Food Safety and Inspection Service* (Agencia de Servicios de Inspección y Seguridad Alimentaria)

HTM- *Haemophilus Test Medium Agar* (Agar de prueba de *Haemophilus*)

IEAI – *International Energy Atomic Agency* (Organismo Internacional de Energía Atómica)

JECFA- *Joint Committee on Food Additives* (Comité conjunto de Expertos en Aditivos Alimentarios)

MH- Mueller-Hinton

MTT- Bromuro de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5- difeniltetrazolio

NCCLS- *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (Comité Nacional de Normas de Laboratorios Clínicos)

OMS- Organización Mundial de la Salud

PECI- Programa de Estancias Cortas de Investigación

RCSPS- Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimiento, Productos y Servicios

SCF- *Scientific Committee for Food* (Comité Científico para la Alimentación Humana)

SCFI- *Clinical and Laboratory Standards Institute* (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio)

2. RESUMEN

Hoy el uso de aditivos en la industria alimentaria es cada vez más común, así como la necesidad de mantener los alimentos en buenas condiciones: física, sensorial y microbiológicamente hablando. Se regulan según la legislación alimentaria de cada país, sobre todo respecto al efecto toxicológico de las personas al ingerirlos.

Actualmente existe una gran variedad de conservadores que se encuentran legislados con un límite en “Buenas prácticas de Fabricación”, es decir que “es la cantidad de un aditivo que se añade al producto, limitándose a la dosis mínima necesaria para obtener el efecto deseado, a condición de que no altere la naturaleza, sustancia o inocuidad del producto”, sin embargo; en la legislación mexicana no existe alguna normativa que regule y avale el proceso por el que se valida la concentración mínima de éstos en el alimento para que sea efectivo.

En el presente trabajo se presenta de manera general el uso de conservadores en los alimentos y en la percepción de los consumidores de éstos. Así como los principales métodos para evaluar la efectividad de los conservadores y establecer la concentración mínima inhibitoria que se requiere para el desarrollo de diferentes tipos de productos y todo lo que implica la elección de un conservador para que tenga efecto sobre los microorganismos a los que va enfocado. A partir de la información bibliográfica consultada, se propondrá un sistema para que el Químico de Alimentos cuente con información actualizada respecto a uso, así como el desarrollo de conservadores alimentarios y sus tendencias.

Se realizará una revisión bibliográfica exhaustiva en la que sean comparados métodos y alternativas para conocer la CMI de un conservador y así contar con la información necesaria para una elección adecuada con respecto a la cantidad necesaria de conservador a añadir en el desarrollo de productos alimenticios para que tenga la función correcta de acuerdo al tipo de producto, y que, además se tenga un análisis para saber cuál es la tendencia de preferencia de los consumidores.

3. INTRODUCCIÓN

En México y en otras partes del mundo, ha existido la necesidad de formular productos que disminuyan el uso de los aditivos conservadores que se incorporan en los productos alimenticios, sin perder o garantizar su función tecnológica, impedir malas prácticas de fabricación, cumplir con la regulación de estos y que el consumidor los siga percibiendo como funcionales y seguros, manteniendo en todo momento su inocuidad.

Existen varios tipos de organismos que regulan y controlan el uso de conservadores dependiendo del país en el que se utilice, como COFEPRIS para México y FDA para Estados Unidos, estos establecen cuáles son los conservadores que están permitidos utilizar y de igual manera, si lo que se busca es agregar un nuevo conservador es necesario solicitarlo con la autoridad sanitaria correspondiente para que esta determine si su uso es seguro en alimentos, así como las cantidades permitidas y en qué tipo de alimento será permitido.

Actualmente existe una gran variedad de conservadores que se encuentran legislados con un límite en “Buenas prácticas de Fabricación”, es decir que “es la cantidad de un aditivo que se añade al producto, limitándose a la dosis mínima necesaria para obtener el efecto deseado, a condición de que no altere la naturaleza, sustancia o inocuidad del producto”, sin embargo; en la legislación mexicana no existe alguna normativa que regule y avale el proceso por el que se valida la concentración mínima de éstos en el alimento para que sea efectivo.

En el mundo existe una clara demanda por el cambio en los hábitos de consumo de alimentos de la población, así como el tipo de alimentos que se consumen, con una clara tendencia a “lo natural”, es decir, a consumir alimentos que contengan la menor cantidad de ingredientes y que el origen de estos sea natural. Por lo que la industria se ha visto cuestionada por el uso de los conservadores químicos que actualmente se encuentran en el mercado y en los productos. En consecuencia, la investigación se ha visto en la necesidad de buscar conservadores alimenticios de origen natural para mantener la vida de anaquel de los alimentos.

Pero el reto principal de los investigadores es probar la efectividad de estos. Para lo cual, se realizan pruebas de Concentración Mínima Inhibitoria; existe gran variedad de métodos para este tipo de pruebas como: Macrodilución, microdilución, Épsilon, Difusión en disco y métodos más innovadores. La elección de la técnica va a variar

dependiendo de las necesidades de cada estudio (tipo de microorganismo, tipo de conservador a elegir, presupuesto, tiempo disponible, etc.) así como de las ventajas y/o desventajas de la elección de cada uno de estos, pero todos tendrán que ayudar a la resolución de si el aditivo tiene o no las características de inhibición deseadas.

Conocer a los microorganismos causantes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos o causantes de su deterioro es indispensable, para entender en qué matrices alimentarias se encuentran comúnmente y en qué tipo de condiciones sobrevive, se puede reproducir y/o producir una toxina. De igual manera, es de suma importancia conocer el producto en el que está planeado aplicarse para saber a qué bacteria u hongo es mayormente susceptible un tipo de alimento de acuerdo con sus características y procesamiento. Además de saber los síntomas que causa cada uno de ellos

4. JUSTIFICACIÓN

La innovación en el área de aditivos alimentarios es constante, de acuerdo con el evento Food Tech realizado en el año 2019, existe una tendencia clara hacia las “Etiquetas limpias” en los alimentos, esto quiere decir que el consumidor cada vez se preocupa más porque en su dieta se incluyan productos alimenticios que tengan cada vez menos ingredientes y de preferencia de origen natural. En respuesta a esto, una de las acciones que ha tomado la industria es intentar reemplazar los aditivos de origen químico por ingredientes con la misma funcionalidad, pero de origen natural.

Por tal motivo, es importante contar con una guía sobre los lineamientos necesarios para comprobar la eficiencia de los conservadores, ya sea para desarrollar un nuevo conservador o para saber cómo utilizar los que ya se encuentran en el mercado para aplicar en alimentos, y así garantizar de esta forma que los alimentos consumidos por la población mantengan la inocuidad tanto toxicológica como microbiológica, sin sacrificar la innovación en el mercado.

5. OBJETIVOS

Objetivos generales

- Realizar una búsqueda de las metodologías para conocer la Concentración Mínima Inhibitoria de conservadores alimentarios de acuerdo con la matriz en la que se agregan. De igual manera, las tendencias, legislación, y percepción de los consumidores referente al uso de conservadores. Así como los microorganismos en los que la investigación se está enfocando para el diseño y desarrollo de conservadores alimentarios.

6. ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

Se define a las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA's) a aquellas adquiridas por las personas que consumieron agua o alimentos contaminados por sustancias químicas o microorganismos (bacterias, virus o parásitos). Son de carácter infeccioso o tóxico y consisten en la aparición de síntomas principalmente gastrointestinales, sin embargo, también pueden desarrollarse neurológicos, inmunológicos, entre otros (OMS, 2020).

De acuerdo con las "Estimaciones de la OMS sobre la carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria", las ETA's constituyen una importante causa de morbilidad y mortalidad y un significativo impedimento al desarrollo socioeconómico en todo el mundo. También agrega que se identificaron 31 agentes principales (entre ellos 5 bacterias) causantes de 600 millones de casos de ETA y 420 000 muertes en el año 2010 (OMS, 2015).

6.1 Microorganismos patógenos importantes en la industria alimentaria

6.1.1 *Clostridium botulinum*

Es un bacilo grampositivo, anaerobio que forma esporas con ubicación subterminal, produce siete tipos diferentes de neurotoxinas (A-G) en ausencia de oxígeno (Coffield, et. al., 2007). Las esporas se distribuyen en suelos cultivados, forestales; ríos, lagos, aguas costeras; tracto intestinal de peces y mamíferos; y en las branquias y vísceras de cangrejos y otros mariscos (FDA, 2012).

Mecanismo y síntomas

Produce una enfermedad llamada botulismo. Las neurotoxinas A, B y F son las asociadas al botulismo en humanos, de ellos A y B son las más tóxicas y frecuentes (Coffield, et. al., 2007). La enfermedad provoca la parálisis flácida de los músculos, incluidos los del tracto respiratorio, y existen tres tipos de botulismo; pero solo dos de ellos se transmiten por alimentos. La toxina es muy potente, una dosis de 1,5 a 2 mg se considera mortal, los síntomas aparecen de las primeras 18 a 36 horas después de la ingesta, aunque se han presentado síntomas de 4 horas a 8 días (FDA, 2012). Si no es tratada lo antes posible, su mortalidad puede llegar a ser hasta del 5 % al 10 % (FDA, 2012).

Presencia en alimentos

Sus esporas son resistentes al calor y pueden sobrevivir en alimentos que estén mínimamente o mal procesados y principalmente en conservas (FDA, 2012). La incidencia en alimentos es rara (Hernández, 2016).

6.1.2 *Escherichia coli*

Son bacilos gramnegativos, no esporulados y algunos poseen flagelos peritricos. Forman parte de la microbiota intestinal de las personas y animales de sangre caliente. Se dividen en seis grupos: enterohemorrágica (EHEC) que produce toxina Shiga, enteroinvasiva (EIEC), enteropatógena (EPEC) y enterotoxigénica (ETEC) que produce enterotoxinas termoestables y termolábiles, enteroagregativa (EAEC) y de adherencia difusa (DAEC) (Hernández, 2016).

Mecanismo y síntomas

Tiene un periodo de incubación de más de 14 horas. La dosis infectiva en el caso de la ETEC, EPEC, es de 10 millones a 10 billones de células; sin embargo, la EIEC requiere de 200 a 500 y la EHEC requiere solamente de 10 a 100 células, además las dosis dependen del estado de salud de la persona y de la edad (FDA, 2012). La intensidad de los síntomas y su mecanismo de acción varían de acuerdo con el tipo de *Escherichia coli*, sin embargo, la sintomatología que genera principalmente es: vómito, diarrea (súbita e intensa, en ocasiones con sangre), fiebre y dolor estomacal, la mayoría de las personas se recupera en un periodo de 5 a 10 días.

En cuanto a sus mecanismos de acción, colonizan la mucosa ileal del intestino con ayuda de las fimbrias dos de los grupos causan intoxicación: enterohemorrágica y enterotoxigénica; los demás son de infecciosas (Hernández, 2016). En cuanto a la mortalidad, esta depende del tipo de *Escherichia coli*, las más peligrosas son EHEC con una mortalidad del 3% al 5% y la EPEC que en el pasado llegó a ser del 50% al 60%, las cuales han decrecido con el avance de la medicina (FDA, 2012).

Presencia en alimentos

Su incidencia se debe al contacto de los alimentos con agua contaminada, contaminación cruzada o por malas prácticas de manufactura relacionadas con la falta de higiene (Hernández, 2016). En el caso de la EHEC, puede estar presente en carne cruda o mal cocida, pero se ha demostrado que puede llegar a desarrollar tolerancia a

alimentos con pH bajos como yogurt, salchichas fermentadas, mayonesa y fruta no pasteurizada (FDA, 2012)

6.1.3 *Salmonella* spp.

Son bacilos gramnegativos, no esporulados, anaerobio facultativo, su movilidad se debe principalmente a flagelos peritricos. Es capaz de crecer a temperaturas bajas (2 °C) y en situaciones con a_w menor a 0.2. Se han identificado alrededor de 2500 serotipos, y se encuentra ampliamente dispersa principalmente en animales con sangre caliente; sin embargo, también se ha detectado su presencia en animales con sangre fría (Pedraza, J. G., *et al.*, 2014). Representa aproximadamente el 31 % de los brotes de ETA's (Hernández, 2016).

Mecanismo y síntomas

Según su serotipo, la bacteria desarrolla dos enfermedades diferentes: No tifoidea y fiebre tifoidea (FDA, 2012). Su periodo de incubación es de 6 a 72 h (Hernández, 2016). Para salmonelosis no tifoidea es necesario tan solo una célula dependiendo de la edad y el estado de salud del huésped para desarrollar la enfermedad y en el caso de la fiebre tifoidea se necesitan menos de 1,000 células (FDA, 2012).

Puede manifestarse en forma aguda con fiebre ligera, náuseas, vómitos, dolor abdominal y diarrea durante unos días o una semana, sin embargo, la gravedad de los síntomas puede variar hasta llegar a una fiebre entérica o fiebres tifoidea y paratifoidea, con una incubación de entre 3 y 56 días y síntomas de fiebre, dolor de cabeza, sensibilidad abdominal, constipación, manchas en la superficie del cuerpo de color rojo, infección del flujo biliar, hemorragias provocadas por úlceras y perforación del intestino causando peritonitis dependiendo del tipo de *Salmonella* que haya infectado (Winn, W. C., *et al.*, 2008). La mortalidad de la enfermedad es menor a 1 % afectando más a grupos vulnerables como ancianos y personas hospitalizadas, sin embargo, para el caso de la fiebre tifoidea es del 10 % si no es tratada (FAD, 2012).

Presencia en alimentos

Tiene mayor incidencia en alimentos de origen animal como: Aves, carnes y sus derivados; sin embargo, también se puede encontrar en otros alimentos por malas prácticas de manufactura (Hernández, 2016). Recientemente se han presentado brotes importantes en alimentos frescos, de igual forma se puede encontrar en especias porque la bacteria puede sobrevivir en ambientes con bajo contenido de agua (FDA, 2012).

6.1.4 *Staphylococcus aureus*

Es una bacteria con forma de coco agrupada en racimos, grampositiva, no esporulada, posee tolerancia frente a compuestos como telurio, cloruro mercurico, neomicina, polimixina y ácido sódico (Perdomo, et. al., 2004). Es uno de los microorganismos no-esporulados más resistentes además de poder sobrevivir períodos prolongados en un estado seco, tolerante a sales y azúcares (FDA, 2012). Se encuentra distribuida principalmente en las superficies corporales de la mayoría de los animales de sangre caliente (Herrera, et al., 2015). Algunas especies de estafilococos pueden producir una enterotoxina altamente termoestable capaz de producir intoxicación alimentaria (FDA,2012).

Mecanismo y síntomas

El periodo de incubación una vez ingerida la enterotoxina es de 1 a 8 h (Hernández, 2016). La dosis infectiva es de 1 microgramo de toxina, es decir, más de 100,000 organismos/g de alimento, aunque hay personas sensibles que solo necesitan de 100 a 200 ng de toxina (FAD, 2012). La intoxicación se produce por el consumo de la enterotoxina preformada en el alimento que es producida por la bacteria, existen diferentes tipos de enterotoxina: A, B, C, D, y E. Los síntomas son principalmente náuseas, dolor abdominal, emesis, diarrea y postración y su intensidad depende de la cantidad de alimento contaminado ingerido y la susceptibilidad individual (Citado por Ortegon, 2017). La muerte debido a la bacteria es poco común, aunque los adultos mayores, niños y gente débil son más susceptibles (FDA, 2012).

Presencia en alimentos

Normalmente se encuentra en alimentos de origen animal como carne y derivados, aves, y leche y derivados (Hernández, 2016). Por su hábitat, es frecuente que se contaminen los alimentos con esta bacteria si quien los manipula es portadora nasal o tiene heridas y/o forúnculos en manos y brazos (Herrera, et al, 2015).

6.1.5 *Listeria monocytogenes*

Es un bacilo grampositivo, no esporulado, con flagelo peritrico. Se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, se ha aislado de ríos, fangos, silos, aguas negras y diversa vegetación. Infecta aves, mamíferos y algunos crustáceos. Un 76 %

de los casos de contagios han sido de persona a persona. (Hernández, 2016) Es halotolerante, además de que puede sobrevivir e incluso reproducirse a temperaturas menores de 1 °C (FDA, 2012).

Mecanismo y síntomas

Su periodo de incubación es de entre 2 a 6 semanas, puede ser asintomática o asociarse con malestar general, náuseas, diarrea y poca fiebre (Hernández, 2016). La dosis infectiva no está establecida ya que esta puede variar dependiendo de la susceptibilidad de la persona infectada y la matriz alimentaria (FDA, 2012). Al comienzo, la bacteria interacciona con las células epiteliales para promover su internalización provocando translocación intestinal, posteriormente ataca al hígado y se multiplica en los hepatocitos hasta recibir respuesta inmune celular en el peor de los casos puede ocasionar una bacteriemia, lo cual conduce a una invasión de cerebro y útero grávido (Hernández, 2016). Aunque no es una de las principales ETA's, la listeriosis es una de las principales causas de muerte de estas, con una mortalidad reportada del 15 % al 30 % sin embargo; dependiendo de la gravedad puede llegar a ser hasta de un 70 % y más del 80 % en casos neonatales y perinatales (FDA, 2012)

Presencia en alimentos

Los productos mayormente relacionados con listeriosis son: verduras mal lavadas y crudas, carnes mal cocidas, alimentos enfriados y productos listos (Hernández, 2016) además, tiene mayor incidencia en leche y derivados principalmente por problemas en el proceso de pasteurización (FDA, 2012).

6.1.6 Campylobacter jejuni

Bacteria gramnegativa curvada en forma de espiral o sacacorchos, no esporulada, con flagelos polares o bipolares y es microaerófilo obligado (Hernández, 2016). No fermentan ni oxidan carbohidratos y algunas cepas son termófilas, por lo que pueden desarrollarse a temperaturas de 42°C (Ramos, et. al., s.f). Es común que se encuentre en aves de corral ya que forma parte del microbiota intestinal de ellos (García, P., et al., 2009); sin embargo, se encuentra también en animales de sangre caliente como cerdos, gatos, perros, y vacas. Es frecuente la ingesta de este microorganismo debido a que la carne de las aves principalmente es contaminada con el contenido intestinal de estas durante su proceso de sacrificio, a este microorganismo se le atribuye el 9 % de los brotes de ETA's. (Hernández, 2016).

Mecanismo y síntomas

Presenta un periodo de incubación de entre dos a cinco días y la enfermedad se puede extender hasta 10 días. Se considera que se deben ingerir 10.000 células para desarrollar la enfermedad; pero algunos estudios muestran que con tan solo 500 se puede tener malestar, lo que depende del alimento y del estado de salud de la persona hospedadora (FDA, 2012). Algunos de sus síntomas son: fiebre (en algunas ocasiones mayor a 40 °C), dolor abdominal y de cabeza, diarrea líquida y de olor desagradable. La bacteria coloniza los intestinos delgado y grueso, su interacción con las células promueve procesos proinflamatorios, además, produce dos toxinas: una es enterotoxina causante de diarrea secretora y citotoxina la cual afecta a algunos tipos celulares. (Hernández, 2016). La infección por esta bacteria actualmente se encuentra siendo asociada con el desarrollo del síndrome de Guillain Barré (una enfermedad autoinmune), debido a que este es desencadenado de una infección pulmonar o gastrointestinal y uno de los agentes desencadenantes más comunes es *Campylobacter jejuni* (Finsterer, 2022)

Presencia en alimentos

El origen en la infección humana usualmente es debido al consumo de alimentos de origen animal como leche cruda, quesos no pasteurizados o carne de ave poco cocida (Hernández, 2016). También está relacionada con la manipulación de alimentos, por fallas de proceso o contaminación cruzada (FDA, 2012).

6.1.7 Bacillus cereus

Es una bacteria con forma de bastón alargado, grampositivo, con flagelos peritricos. Puede formar una endospora simple en la posición central o paracentral sin hinchar el esporangio y esporula libremente en muchos medios bajo condiciones aireadas al carecer de nutrientes, lo que le permite sobrevivir períodos largos de carencia nutricional, y al esporular puede sobrevivir a diferentes factores ambientales como altas temperaturas, radiaciones y reactivos químicos. Sus células vegetativas pueden crecer anaeróbicamente (Citado por Portuondo, 2012).

Mecanismo y síntomas

Este microorganismo produce siete tipos de toxina: la cereulida (toxina emética), tres enterotoxinas (causantes del síndrome emético y el diarreico) y tres fosfolipasas (Citado por Portuondo, 2012). Tiene un periodo de incubación de 8 a 22 h al consumir

la toxina diarreica o de 1 a 8 h para la enterotoxina preformada (Hernández, 2016). La toxicidad surge de la toxina preformada, y esta está relacionada con la presencia de 10^5 a 10^8 células (FDA, 2012). La sintomatología varía de acuerdo a la toxina ingerida, en el caso del síndrome emético produce síntomas similares a la intoxicación por *Staphylococcus aureus*: náuseas agudas y vómitos; y en cuanto a la diarreica, como su nombre lo dice, produce diarrea secretora se caracteriza por una perturbación del movimiento del agua y los electrolitos a través del epitelio del intestino delgado, este tipo de toxina no sobrevive a las condiciones estomacales por lo que las células vegetativas sobrevivientes son las que secretan la enterotoxina (Citado por Portuondo, 2012). La muerte por *B. cereus* es rara, sin embargo, puede traer consigo complicaciones a largo plazo como insuficiencia hepática (FDA, 2012).

Presencia en alimentos

Se encuentra principalmente en vegetales crudos y cereales, pero debido a su capacidad de esporular puede sobrevivir en una amplia gama de alimentos lo cual requiere mayores medidas para controlar su crecimiento porque después del tratamiento térmico se eliminan microorganismos competidores (Citado por Portuondo, 2012).

6.1.8 Shigella spp.

Las Shigellas son bacterias con forma de bastoncillo, que no tienen movimiento, no forman esporas y son de tipo Gramnegativo (FDA, 2012). Son cuatro especies, todas infecciosas: *Shigella sonnei*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* y *Shigella dysenteriae* (Prats y Mirelis, 1998). Shigella es muy susceptible a los cambios de ambiente y muere muy fácilmente, son sensibles al calor por lo que no sobreviven a temperaturas de cocción, sin embargo pueden sobrevivir y en algunos casos crecer a niveles bajos de pH como el de algunas frutas y verduras (FDA, 2012)

Mecanismo y síntomas

Shigella produce una infección bacteriana aguda llamada shigelosis, esta afección impacta el colon y la parte final del intestino delgado, y se caracteriza por la presencia de diarrea acompañada de fiebre, náuseas y ocasionalmente síntomas como toxemia, vómitos, cólicos y tenesmo. En situaciones típicas, las heces contienen sangre y moco, lo que se conoce como disentería (Ramirez, 2001). Son necesarias de 10 a 200 células para comenzar la infección y tienen un periodo de incubación de 8 a 50 horas y los síntomas tienen una duración de 5 a 7 días (FDA, 2012). Una ingerido el

microorganismo, se debe fijar al intestino delgado (íleon o yeyuno) y multiplicarse; en esta etapa no se observa ningún fenómeno clínico y los síntomas solamente aparecen después de que la bacteria se traslada a través del epitelio (Ramirez, 2001)

Presencia en alimentos

La mayoría de los episodios de shigelosis se originan por la ingesta de alimentos o agua que han sido afectados por la presencia de heces contaminantes. En el contexto de los alimentos, el factor primordial de contaminación suele vincularse con prácticas deficientes de higiene personal entre aquellos que manipulan los alimentos (FDA, 2012). Las shigelas tienen como único reservorio al hombre y su dosis infectante mínima es pequeña, lo que permite su transmisión no sólo a través de los alimentos, sino también a través del agua y por contacto directo entre niños en las guarderías (Prats y Mirelis, 1998).

6.1.9 Bacterias entéricas oportunistas

Se refieren a un grupo de bacterias gramnegativas: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Aerobacter*, *Providencia*, *Serratia* (FDA, 2012). Todas son bacterias móviles a excepción de *Klebsiella*, mientras que las móviles están rodeadas por flagelos peritricos (Guerrero P., et al., 2014). El ser “Bacterias patógenas oportunistas” se refiere a aquellas que viven de manera normal en la flora de las personas y/ ambiente que las rodean, sin embargo, causan daño únicamente cuando el sistema inmune se encuentra deprimido y no cuenta con las defensas suficientes (Cisterna, R., 2007)

Mecanismos y síntomas

Al ser una gran diversidad de bacterias las contempladas en este punto no se tiene un mecanismo de infección en específico, algunas producen intoxicaciones como *Klebsiella*, mientras que otras infecciones como *Providencia* (FDA, 2012). Estos microorganismos suelen asociarse a infecciones que adquieren la mayor parte del tiempo personas que se encuentran internadas en hospitales, sobre todo en neonatos e inmunodeprimidos (Guerrero P., et al., 2014). La mayoría de las enfermedades que producen son relacionadas con los temas gastrointestinales, sin embargo, algunas también son causantes de infecciones de vías urinarias e incluso de piedras en los riñones (Guerrero P., et al., 2014).

Presencia en alimentos

Estos microorganismos se encuentran en diferentes áreas como tracto intestinal de animales y humanos, así como en fuentes de agua contaminadas, sin embargo, es complicado que sean identificadas por un laboratorio de microbiología de alimentos (FDA, 2012)

6.2 Microorganismos de deterioro

Existen ciertos microorganismos que se desarrollan en los alimentos y provocan su deterioro (cambios en el olor, apariencia, textura y sabor), aunque el consumirlos no necesariamente provocará una enfermedad (Tabla 1) (Inungaray y Reyes, 2013). Estos microorganismos son: levaduras, mohos y/o bacterias ácido-lácticas y su aparición varía de acuerdo a factores intrínsecos como la composición del alimento, parámetros fisicoquímicos como actividad de agua y pH; y también de factores externos como: malas prácticas de manufactura, fallas en el procesamiento, empaque condiciones de almacenamiento (Bioser, s.f.).

Tabla 1. Algunos microorganismos de deterioro presentes en alimentos

Nombre	Tipo de microorganismo	Alimento en el que se encuentra
<i>Rhizopus orizae</i>	Hongo (Filamentoso)	Tomate
<i>Aspergillus flavus</i>	Hongo (Filamentoso)	Cereales, cacahuates
<i>Penicillium</i>	Hongo (Filamentoso)	Cítricos
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	Hongo (Levadura)	Jarabes, jamones y jaleas
<i>Rhizopus spp</i>	Hongo (Filamentoso)	Pan
<i>Aspergillus</i>	Hongo (Filamentoso)	Tortilla
<i>Pseudomonas</i>	Bacteria	Carne de res y ave

Nota: La tabla muestra ejemplos de microorganismos de deterioro y los alimentos en los que usualmente se encuentra [Fuente: Tomada y adaptada de Inungaray y Reyes, 2013].

7. ADITIVOS ALIMENTARIOS

Se entiende como aditivo alimentario a cualquier sustancia que en cuanto tal no se consume normalmente como alimento, ni tampoco se usa como ingrediente básico en alimentos, tenga o no valor nutritivo, y cuya adición al producto con fines tecnológicos en sus fases de producción, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento, resulte o pueda preverse razonablemente que resulte (directa o indirectamente) por sí o sus subproductos, en un componente del producto o un elemento que afecte a sus características (incluidos los organolépticos). Esta definición no incluye "contaminantes" o sustancias añadidas al producto para mantener o mejorar las cualidades nutricionales (COFEPRIS, 2012).

7.1 Conservadores

El ACUERDO por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias (COFEPRIS, 2012) establece que los agentes conservadores son sustancias o mezcla de sustancias que previenen, retardan o detienen cualquier alteración causada por microorganismos. Los factores de los que depende que un conservador tenga eficacia en el alimento son: 1. La concentración de la sustancia química, 2. La especie, el número y la edad, y los antecedentes de los microorganismos existentes en el alimento, 3. La temperatura, 4. Momento en el cual se añade el conservador al alimento, y 5. Las propiedades químicas y físicas del sustrato en el cual se encuentran los microorganismos (grado de humedad, pH, clase y concentración de solutos, tensión superficial, y existencia de coloides y otras sustancias protectoras) (Frazier y Westhoff, 1993).

7.1.1 Antimicrobianos

Hay dos tipos de antimicrobianos: bacteriostáticos y bactericidas. Los primeros, inhiben el crecimiento y multiplicación de las bacterias; sin embargo, si el agente es retirado, las células vuelven a multiplicarse. Mientras que los agentes bactericidas, inhiben el crecimiento y desencadenan mecanismos dentro de la célula que conducen a la muerte bacteriana (Cavalieri, S. J., et al., 2005).

7.1.2 Agentes antimicóticos, y agentes fungistáticos, agentes inhibidores de mohos y hongos filamentosos

Los antimicóticos son compuestos que provocan la muerte de la presencia de hongos actuando a distintos niveles de la célula fúngica, mientras que los fungistáticos inhiben el crecimiento del hongo (Citado por López, 2013).

7.1.3 Agentes de control bacteriófagos

Son virus que infectan a bacterias específicas provocando su lisis. En la industria alimentaria se utilizan frente a diversas bacterias patógenas como: *Salmonella*, *Campylobacter* y *Escherichia coli* O157:H7. Y se añaden en diferentes etapas de la cadena de producción del alimento y con diversos fines, algunos de ellos son: reducción de la carga microbiana en animales de granja, descontaminación de alimentos, desinfección de superficies industriales, aumento de la vida útil de los alimentos y detección de bacterias patógenas (Fernández, et al., 2020).

7.1.4 Sinergistas antimicrobianos

Se dice que existe un efecto sinérgico de dos agentes conservadores cuando el efecto observado al mezclarlos es mayor al uso de cada uno de manera independiente (Barry, 1976).

7.2 Conservadores más usados

Existe una amplia gama de conservadores que se utilizan actualmente en la industria alimentaria, de acuerdo a su origen se clasifican en artificiales y naturales; y su uso depende del costo, la seguridad y que no altere sus cualidades sensoriales, además de la matriz alimentaria al que se agregan (Christian, 2019). A continuación, se enlistan los conservadores químicos más usados en la industria alimentaria:

7.2.1 Sorbato de potasio

Es un conservador de alimentos utilizado desde los años cuarenta como inhibidor de hongos, levaduras y bacterias. Se ha demostrado que puede retardar toxigenesis de bacterias como *Clostridium botulinum*, además de controlar a *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, también gran variedad de mohos y levaduras, tales como *Saccharomyces cerevisiae* y *Aspergillus niger*. Se utiliza en una amplia gama de alimentos como lo son: quesos, productos de panadería, jugos, mermeladas, entre otros (Duarte, 2001).

Mecanismo de acción

El mecanismo de acción del conservador depende del tipo de microorganismo al cual inhibirá. El sorbato de potasio tiene diferentes mecanismos de inhibir el crecimiento microbiano: alteraciones en la morfología, integridad y función de la membrana celular, inhibición de funciones de transporte y actividad metabólica. Cuando un microorganismo se expone a altas concentraciones de sorbato, su muerte es atribuida a la generación de agujeros en su membrana. También, disminuye la asimilación de sustratos mediante inhibición de enzimas indispensables en el transporte, metabolismo, crecimiento y replicación (García, 2005).

Condiciones de aplicación

Según Duarte (2001), se utiliza en una concentración mínima de 0,3 % en peso para inhibir el crecimiento de hongos y levaduras. El pH de uso es de máximo 6.5, sin embargo, su efectividad aumenta al reducir este. Además del pH, existen más factores que influyen en la actividad antimicrobiana de éste, como la complejidad del alimento en el que se añade, ya que algunos microorganismos se inhiben a concentraciones muy bajas y otros requieren concentraciones más altas para su efectividad, mientras el sustrato tenga menor actividad de agua, mayor es la del sorbato (García, 2005).

Límites de uso

A continuación (Tabla 2), se detallan los límites establecidos para Sorbatos por las entidades más representativas regulatorias de aditivos en el mundo como lo son la Unión Europea y el CODEX, así como como los límites establecidos por México en el acuerdo de aditivos para las diferentes categorías de alimentos.

Tabla 2*Límites de uso para el Sorbatos establecidos por distintas legislaciones*

Categoría	Legislación		
	COFEPRIS	CODEX	UNIÓN EUROPEA
	Límite	Límite	Límite
	mg/kg o L	mg/kg o L	mg/kg o L
Leche, lácteos, derivados e imitaciones	600-3000	200-3000	BPF-2000
Carne y derivados	1000	200-10000	BPF-1000
De la pesca y derivados	200-1000	1000-2000	200-6000
Huevo y derivados	*	1000-5000	1000-5000
Aceites y grasas comestibles	1000-2000	1000-2000	1000
Frutas, hortalizas, leguminosas y sus derivados	500-100	500-1200	20-2000
Cacao, café, té, y sus derivados	*	500-1000	*
Bebidas no alcohólicas, productos para prepararlas y productos congelados de las mismas	1000	500-1000	250-600
Cereales y productos de estos y harinas de leguminosas	1000-2000	1000-2000	200-2000
Condimentos y aderezos	*	1000	1000
Bebidas alcohólicas	300	200-500	200
Alimentos preparados	*	1000	500-2000
Confitería	*	1500	1000- 1500

Fuente: *No especificado [(Comisión Europea, 2011), (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, 2012) y (Organización Mundial de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura y Organización Mundial de la Salud, 1995)].

7.2.2 Benzoato de Sodio

Es uno de los conservantes más utilizados en el mundo, se obtiene principalmente por síntesis química. Se emplea en alimentos ácidos como jugos, encurtidos, mermeladas, entre otros. Es efectivo en la inhibición de levaduras y mohos, principalmente, sin embargo, también tiene espectro de inhibición para bacterias en menor medida (Machorro, 2006). De acuerdo con Lück y Jager (1995), el benzoato de sodio únicamente es capaz de inhibir bacterias presentes en concentraciones menores de 0.1 %.

Mecanismos de acción

Su efecto se debe a que interviene en el sistema enzimático de los microorganismos. También tiene acción en la membrana celular ya que interfiere en la permeabilidad, lo que causa que el contenido celular se acidifique (León, 2017).

Condiciones de aplicación

Este conservador únicamente es efectivo en medios ácidos de pH. Para niveles de pH de 2.3 a 2.4 se requieren concentraciones de 0.02 a 0.03 % de benzoato de sodio para prevenir el crecimiento de la mayoría de los microorganismos de fermentación, y a rangos de pH de 3.5 a 4.0, se requiere de 0.06 a 0.1 % (Furia, 1998).

Límites de uso

A continuación (Tabla 3, se detallan los límites establecidos para Sorbatos por las entidades más representativas regulatorias de aditivos en el mundo como lo son la Unión Europea y el CODEX, así como como los límites establecidos por México en el acuerdo de aditivos para las diferentes categorías de alimentos.

Tabla 3*Límites de uso para el Benzoato en diferentes instituciones*

Categoría	Legislación		
	COFEPRIS	CODEX	UNIÓN EUROPEA
	Límite	Límite	Límite
	mg/kg ó L	mg/kg ó L	mg/kg ó L
Leche, lácteos, derivados e imitaciones	50-1000	300	300
Carne y derivados	1000	1000	*
De la pesca y derivados	*	200-2000	*
Huevo y derivados	1000	1000-5000	*
Aceites y grasas comestibles	1000	1000	*
Frutas, hortalizas, leguminosas y sus derivados	1000	800-2000	500-2000
Cacao, café, té, y sus derivados	*	1500	*
Bebidas no alcohólicas, productos para prepararlas y productos congelados de las mismas	600	250-1000	*
Cereales y productos de estos y harinas de leguminosas	1000	1000	*
Condimentos y aderezos	*	1000	*
Bebidas alcohólicas	200-1000	1000	*
Alimentos preparados	1000	500-1000	*
Confitería	*	500-1500	*

Fuente: *No especificado [(Comisión Europea, 2011), (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, 2012) y (Organización Mundial de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura y Organización Mundial de la Salud, 1995)].

7.2.3 Propionato de Sodio

Es un inhibidor de mohos, ya que tiene acción fungicida y antimicótica. utilizado tanto en la industria farmacéutica como en la alimentaria para humanos y animales (Arias y Claro, 2006). Principalmente se utiliza en la industria panificadora ya que no interfiere con la acción de agentes leudantes, sin embargo, también se emplea en otro tipo de alimentos como tortillas, quesos, mermeladas, helados, postres, entre otros (Ran, s.f.).

Mecanismos de acción

El mecanismo del propionato varía dependiendo del microorganismo, sin embargo, en todos los casos la inhibición es a nivel del metabolismo, ya sea por competencia con el acetato en el sistema acetoquinasa, por el bloqueo de la conversión de piruvato en acetyl-coenzima A, o bien, por la interferencia con B-alanina en la síntesis del ácido pantoténico (Brock y Buckel, 2004).

Condiciones de aplicación

Para que el propionato tenga efecto conservador necesita estar en su forma ácida, por lo cual requiere un pH de entre 5.5 y 6.5 (Ran, s.f.). Su dosificación varía entre 0.6 % y 0.1 % (Hablemos claro, 2017).

Límites de uso

A continuación (Tabla 4), se detallan los límites establecidos para Propionatos por las entidades más representativas regulatorias de aditivos en el mundo como lo son la Unión Europea y el CODEX, así como como los límites establecidos por México en el acuerdo de aditivos para las diferentes categorías de alimentos.

Tabla 4

Límites de uso para el Propionato en diferentes instituciones

Categoría	Legislación		
	COFEPRIS	CODEX	UNIÓN EUROPEA
	Límite	Límite	Límite
	mg/kg ó L	mg/kg ó L	mg/kg ó L
Leche, lácteos, derivados e imitaciones	BPF (En todas las categorías)	BPF-3000	BPF
Cereales y productos de estos y harinas de leguminosas		*	1000-3000

Fuente: *No específico [(Comisión Europea, 2011), (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, 2012) y (Organización Mundial de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura y Organización Mundial de la Salud, 1995)].

7.2.4 Nitrito de Sodio

Además de su función conservadora, los nitritos se encargan de la formación y estabilización del color rosa característico de los embutidos, su olor y tiene efecto antioxidante al reducir la rancidez (Citado por Palavencino, 2017).

Mecanismos de acción

Se ha demostrado que tienen acción inhibitoria en contra de *Clostridium botulinum*, sin embargo, tienen una acción limitada en el caso de los demás microorganismos (Frazier y Westhoff, 1993). También tiene acción contra *Clostridium perfringens* y *Staphylococcus aureus*. Se ha propuesto que impiden el crecimiento bacteriano a través de la formación de compuestos N-nitrosos u oxidantes de enzimas intracelulares y ácidos nucleicos. También se menciona el secuestro del hierro presente, el cual es esencial para el metabolismo de *C. botulinum*. Otra de las teorías es que el nitrito puede limitar el intercambio celular y el transporte de sustratos debido a que interfiere con los compuestos de membrana (Citado por Palavencino, 2017).

Condiciones de aplicación

El efecto que tiene en los alimentos es disminuir la actividad del agua de éstos. El efecto de los nitritos depende de muchos factores: su efectividad aumenta al disminuir el pH, potencial óxido-reducción, temperatura, presencia de ascorbato y número inicial de esporas (Citado por Palavencino, 2017).

Límites de uso

A continuación (Tabla 5), se detallan los límites establecidos para Nitritos por las entidades más representativas regulatorias de aditivos en el mundo como lo son la Unión Europea y el CODEX, así como como los límites establecidos por México en el acuerdo de aditivos para las diferentes categorías de alimentos.

Tabla 5

Límites de uso para Nitritos en diferentes instituciones

Categoría	Legislación		
	COFEPRIS	CODEX	UNIÓN EUROPEA
	Límite	Límite	Límite
	mg/kg ó L	mg/kg ó L	mg/kg ó L
Carne y derivados	156	80	50-185
De la pesca y derivados	150-156	*	*

Fuente: *No específico [(Comisión Europea, 2011), (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, 2012) y (Organización Mundial de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura y Organización Mundial de la Salud, 1995)].

7.3 Tendencias en conservadores

Actualmente existe una clara tendencia en la población hacia lo natural, en virtud a lo anterior la industria debe adaptarse y hacer los cambios pertinentes, hablando de aditivos conservadores la principal tarea es reemplazarlos por ingredientes naturales (Guillen, 2019). El término conocido como “Clean label”, no tiene una definición establecida, sin embargo, se puede decir que hace referencia a que la lista de ingredientes de los alimentos debe ser lo más clara, corta y con ingredientes y/o aditivos que no sean altamente procesados o de origen químico/ sintético (Asioli, et al., 2017).

7.3.1 Conservadores naturales

Se han comenzado a desarrollar conservadores de alimentos hechos a base de plantas los cuales por su composición tienen el poder de inhibir el crecimiento de microorganismos e incluso de evitar reacciones químicas como la rancidez o reacciones enzimática. Dentro de estas características es que sean estables al calor y que no alteren las propiedades sensoriales originales de los alimentos.

Hay diferentes tipos de conservadores naturales, dentro de ellos se encuentran extractos antioxidantes fenólicos, por ejemplo, los obtenidos de guaraná, romero, orégano, tomillo y canela (Pelayo, 2008; Guillen, 2019).

Bacteriocinas

Las bacteriocinas son producidas durante los procesos de fermentación de bacterias ácido-lácticas. Estos compuestos tienen mayor efectividad contra bacterias Gram positivas debido a que solo tienen una capa en su membrana por lo que son más fáciles de hidrolizar. Pueden ser añadidos a los alimentos para disminuir la cantidad de conservador y/o la cantidad de intensidad del tratamiento térmico (Sun, et al, 2011) Algunos ejemplos son los siguientes: Lacticina y nisina.

Extractos naturales o aceites esenciales

Algunos aceites esenciales son estudiados como nuevos conservadores naturales ya que tienen una mezcla de ésteres, aldehídos, cetonas y terpenos y pueden inhibir diferentes especies de bacterias, dependiendo de su composición (Señorans, et al,

2015). “El mecanismo de acción antimicrobiana no está completamente definido debido a su variabilidad química, aunque se sabe que las bacterias Gram positivas son más susceptibles a esos compuestos. Son capaces de desintegrar la pared bacteriana y su membrana con ayuda de los ácidos grasos que tiene los cuales son los responsables de cambiar su polaridad” (Citado por Falleh, *et al*, 2020. La principal desventaja del uso de estos es que pueden alterar las características sensoriales de los alimentos como aroma y sabor, sin embargo, en la actualidad se encuentran desarrollándose nuevas tecnologías como encapsulamiento o uso de biofilms (Falleh, *et al*, 2020).

7.3.2 Percepción de la población con respecto al uso de conservadores en alimentos

En el 2022, la industria alimentaria tuvo como principal objetivo desarrollar nuevos conservadores naturales ya que la demanda de los consumidores por obtener alimentos de origen natural ha crecido cada día más (The Food Tech, 2002).

Para efectos de este trabajo se realizó una encuesta de cinco preguntas de opción múltiple y una pregunta abierta a 150 personas mayores de 15 años residentes de diferentes estados de la República Mexicana, las cuales respondieron a preguntas relativas a los conservadores alimentarios y su opinión respecto a ellos (ANEXO 1). El grueso de edad de la de los aplicantes tiene más de 45 años (46.7 % del total).

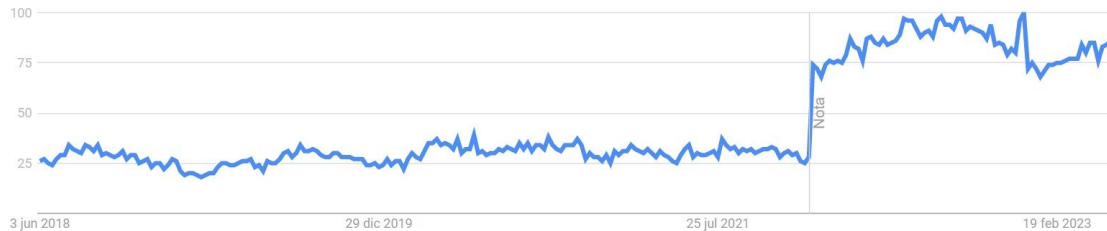
La pregunta inicial fue en referencia a cuál era su postura respecto al uso de conservadores sintéticos en alimentos. El 47 % de los encuestados mencionó que no confiaban en su uso en alimentos, mientras que el 16 % respondieron que les parecía una buena opción para la conservación de alimentos y un alto porcentaje (37 %) mencionó que no tiene conocimiento al respecto a conservadores. Estas respuestas confirman la tendencia reportada por medios en la que la mayor parte de la gente rechaza el uso de conservadores sintéticos debido a diferentes factores. La controversia de si un conservador es dañino se ha tocado en todos los medios de comunicación, tanto en foros científicos como masivos, tales como periódicos, páginas de internet y redes sociales, los de mayor accesibilidad para las personas.

Así mismo, se les cuestionó si habían investigado o tienen conocimiento relacionado con los conservadores naturales y un 66 % respondió que no, pero les gustaría saber más de ellos, mientras que un 25 % afirmó que les parece la mejor alternativa en la conservación de los alimentos. Este término de “Conservación de los alimentos” ha tenido aumento en búsquedas de Internet de acuerdo con la página “Google Trends”

pasando de su menor cantidad de búsqueda con 31 en el mes de diciembre del 2007 hasta su máxima cantidad con 100 en el mes de abril del 2020 (Figura 1).

Figura 1

Gráfica de búsquedas de “Conservación de los alimentos”



[Tomada de <https://trends.google.com/trends/explore?date=today%205-y&q=%2Fm%2F02xtq>]

Para el caso del término de etiqueta limpia, únicamente el 10.7 % respondió que si había escuchado sobre éste, y se les preguntó sobre su opinión al respecto, para lo cual algunos de los comentarios fueron los siguientes:

- “Pues es una buena idea y es una buena iniciativa, aunque creo que sigue estando en pañales y habría que regular todo de mejor manera”
- “Creo que tiene una gran aceptación en el mercado por la posibilidad de tener alimentos más naturales, con menor cantidad de ingredientes y eliminar los sintéticos, a mí me gustan”
- “Es mejor para los consumidores”
- “Es información clara y comprensible en las etiquetas de los productos alimenticios”

Una vez obtenidas estas respuestas se realizó una búsqueda en “Google trends” referente a la búsqueda de la frase “clean label” y sus búsquedas se encuentran estables entre los 5 años anteriores, se destaca que los países principales que realizan la búsqueda son aquellos que se encuentran desarrollados, y en su mayoría aquellos que se encuentran en América del Norte (Figura 2). Esto nos indica que la

tendencia de etiqueta limpia es de mayor interés en países con mayor poder adquisitivo.

Figura 2

Búsqueda de “Clean label” por país en los últimos 5 años



[Tomada de <https://trends.google.com/trends/explore?date=today%205-y&q=clean%20label&hl=es>]

7.4 Nuevas tecnologías

De igual manera, además de uso de aditivos, existen métodos alternativos de conservación de los alimentos que garantizan la eliminación de microorganismos presentes en los productos en los que se aplican. Algunos ejemplos son los siguientes:

Altas presiones hidrostáticas

Los alimentos se someten a altas presiones, provocando deformaciones en las bacterias e incluso eliminan esporas. Las condiciones varían de acuerdo al microorganismo que se quiere eliminar (Entre 27 MPa a 400 MPa para algunos patógenos de importancia). Esta tecnología es capaz de mantener los nutrientes, sabores y aromas, a diferencia de los tratamientos térmicos tradicionales de conservación de alimentos. Sin embargo, una de las más grandes desventajas es que el costo de aplicación de este equipo es alto, por lo que requiere una inversión significativa (Luis, *et al*, 2001).

La eficacia de esta tecnología depende de la actividad de agua de los ingredientes, por lo que es muy conveniente utilizarla en zumos y bebidas, verduras, lácteos, pescados y mariscos, productos cárnicos y platillos preparados del tipo “Listo para consumir”, y

por el contrario, no es recomendable su uso en alimentos en polvo, frutos secos y cereales; tampoco es recomendado en productos con aire como pan y pasteles (Hiperbaric, 2021).

Pulsos eléctricos de alta intensidad

Es un método no térmico para disminuir la carga microbiana de los alimentos que se refiere al uso de pulsos eléctricos de alta intensidad de micro o milisegundos con una intensidad de 0,1–80 kV/cm, haciendo que el alimento pase entre dos electrodos (Bhat, *et al*, 2018).

Las investigaciones más amplias sobre el uso de PEF se han centrado principalmente en alimentos líquidos en lugar de sólidos. Esta preferencia se debe a que los alimentos líquidos presentan concentraciones elevadas de iones, proteínas, vitaminas, triacilglicéridos y minerales. Estos componentes actúan como portadores de carga eléctrica, facilitando un flujo más eficiente de la corriente eléctrica aplicada durante el tratamiento del alimento. Es crucial señalar que esta técnica también se ha aplicado y puede aplicarse en alimentos sólidos, aunque con una eficacia diferente a la observada en los alimentos líquidos (Vivanco, D, *et al*, 2021).

Radiación

De acuerdo con el “Organismo Internacional de Energía Atómica” ó IAEA por sus siglas en inglés, la radiación o irradiación de los alimentos es un método que destruye las bacterias por lo que alarga su vida de anaquel. Es importante resaltar que no utiliza ningún método de calentamiento, enfriamiento o aditivo (www.iaea.org). Existen tres tipos de irradiación a los alimentos aprobados por la FDA: Rayos gamma: Emiten isotopos radioactivos de Cobalto 60 o Cesio 137 Rayos “X” : Se reflejan electrones hiperenergéticos de un metal pesado.. Haz de electrones: Se envía un flujo de electrones impulsados por un acelerador de estos (FDA, 2022).

Algunos de los alimentos que son irradiados en Europa son vegetales como papa, cebolla y ajo, frutos secos, aves y mariscos (Rossi, L., *et al*, 2009) .Los alimentos que están permitidos para ser irradiados por la FDA son: Carne de res, ave y cerdo, crustáceos, frutas y verduras frescas, lechugas y espinacas, semillas para germinar, huevos, especias y condimentos (FDA, 2022)

Rossi, L., Watson, D., Escandarani, S., Miranda, A., & Troncoso, A. (2009). La radiación a la mesa. *Revista chilena de infectología*, 26(4), 318-330.

7.4 Legislación en materia de aditivos alimentarios

Garantizar que el uso de aditivos por la población mundial sea seguro y no conlleve ningún problema de salud a corto, mediano o largo plazo, es fundamental. Debido a esto, el proceso para validar toxicológicamente un nuevo aditivo es el siguiente: identificación química y física, estudios en animales (toxicidad aguda, subaguda, crónica), estudios metabólicos y bioquímicos, estimación de dosis que carece de efecto tóxico para los animales e Ingesta Diaria Admisible (IDA) (Viñuela, 2017).

Los aditivos son regulados de acuerdo con legislación de cada país o conjunto de países como es el caso de la Unión Europea. Cada uno tiene la jurisdicción de aceptar o negar el uso de ciertos aditivos, además de establecer límites de uso para ellos. Es importante mencionar que también cuentan con definiciones y clasificaciones que pueden variar entre sí. Otra diferencia notable es la forma en que se identifican según el país, ya que, aunque tienen un nombre genérico, tienen diferentes claves para nombrarlos.

7.5.1. Legislación a nivel Internacional

Unión Europea

Los países de la Unión Europea se rigen por el “Reglamento (UE) No 1129/2011”, el comité que se encarga de evaluar la seguridad de los aditivos es el Comité Científico para la Alimentación Humana de la Unión Europea (SCF), además del Comité Conjunto de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA).

Estados Unidos de América

En el caso de los Estados Unidos de América, el organismo encargado de aprobar el uso de aditivos alimentarios a nivel federal es la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) y la Agencia de Servicios de Inspección y Seguridad Alimentaria (FSIS) por medio de la “Enmienda de la FD&C sobre aditivos alimentarios de 1958”.

CODEX Alimentarius

La Comisión del *Codex Alimentarius* desarrolló la “Norma General para los Aditivos Alimentarios”, con el propósito de tener una norma internacional armonizada, factible e

incuestionable para el comercio en todo el mundo, en el cual únicamente se incluyen aditivos que han sido evaluados por la JECFA (Quiroz, 2004).

7.5.2 Legislación en México

En México los aditivos son regulados por la Comisión Federal para la Protección de Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), en específico el área designada para la regulación de aditivos es la Comisión de Evidencia y Manejo de Riesgos (CEMAR) por medio del “ACUERDO por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias” publicado el 16 de julio de 2012 (D.O.F. 16 de mayo de 2016), en adición, los cambios no publicados en el DOF y que están vigentes, se encuentran en la página web de COFEPRIS (<https://www.gob.mx/cofepris>).

El punto decimocuarto del Acuerdo de Aditivos (2012) establece que “Podrán modificarse (por ejemplo, cambio o adición de nuevos aditivos, exclusión de aditivos, así como extensiones de uso, clases funcionales y/o tecnológicas, categorías o límites de uso, entre otros) periódicamente en los términos que establecen los artículos 11, 13, 22 y 205 del RCSPS o a petición de cualquier interesado, de conformidad con el artículo 208 del RCSPS, o cuando se proporcionen a la Secretaría las evaluaciones y aprobaciones del JECFA, el *Codex Alimentarius*, la Unión Europea y/o de los Estados Unidos de América” De conformidad con el Artículo 662 del RCSPS (1992), los requisitos para la autorización de un nuevo aditivo, son:

- I. Nombre químico y sinónimo más conocido, si se trata de una sustancia química o género y especie, si se trata de un producto derivado de un vegetal o animal.
- II. Cuando proceda, fórmula química condensada y estructural, si se conoce
- III. Justificación de su función tecnológica.
- IV. Estudios; toxicológicos de origen nacional o extranjero, a corto y largo plazo en los que se incluya la DL50 en animales mamíferos de laboratorio y la ingestión diaria admisible para evaluar su inocuidad, especialmente en relación con el cáncer.
- V. Los métodos analíticos para determinar su identidad, pureza y contaminantes, tanto en el aditivo como en los productos a que se destine.

- VI. Productos en que se propone su empleo y proporción, de manera que ésta, no rebase los márgenes de seguridad.

8. CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA Y CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA

De acuerdo con lo citado por Honra (2005) la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se refiere a la mínima concentración de antimicrobiano (expresada en $\mu\text{g/mL}$) que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 horas de incubación a 37 °C, mientras que la Concentración Mínima Bactericida (CMB) se define como la mínima concentración del antimicrobiano que elimina a más del 99,9% de los microorganismos viables después de un tiempo determinado de incubación (generalmente en 24 horas).

Para conocer y calcular ambas concentraciones se emplean procedimientos en los que la bacteria y el antimicrobiano se mezclan en un medio de cultivo, a estos métodos se les conoce como: pruebas antimicrobianas. Ambas tienen cifras muy cercanas entre sí, generalmente varían en una o dos diluciones (Picazo, 2006).

8.1 Pruebas antimicrobianas

Los estudios de sensibilidad antimicrobiana son importantes para conocer las tendencias de resistencia en los microorganismos de importancia clínica y para definir políticas de uso de antimicrobianos (Martínez, 2003).

Para lograr estandarizar de mejor manera el proceso y tener mejor control de calidad, es recomendable utilizar una cepa control ATCC (*American Type Culture Collection*, por sus siglas en inglés), recomendadas por el Comité Nacional de Normas de Laboratorios Clínicos de Estados Unidos de América ya que se conoce su patrón de sensibilidad y resistencia (Taroco, et al., 2006).

8.1.1 Difusión en agar

También llamada técnica de Bauer y Kirby, es una prueba de tipo cualitativa que detecta qué tan sensible es una bacteria ante un agente antimicrobiano. Está diseñada y estandarizada para bacterias de crecimiento rápido (Herrera, 1999).

Según Picazo (2006), al añadir los discos de papel impregnados con antimicrobiano en la caja Petri con agar inoculado, el antimicrobiano se difunde en el agar formándose un gradiente de concentración. Tras el tiempo de incubación, los discos aparecen rodeados de zonas de inhibición que variarán de tamaño según la eficacia del

antimicrobiano. “La concentración de antibiótico en la interfase entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica y se aproxima a la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida por métodos de dilución” (Picazo, 2006).

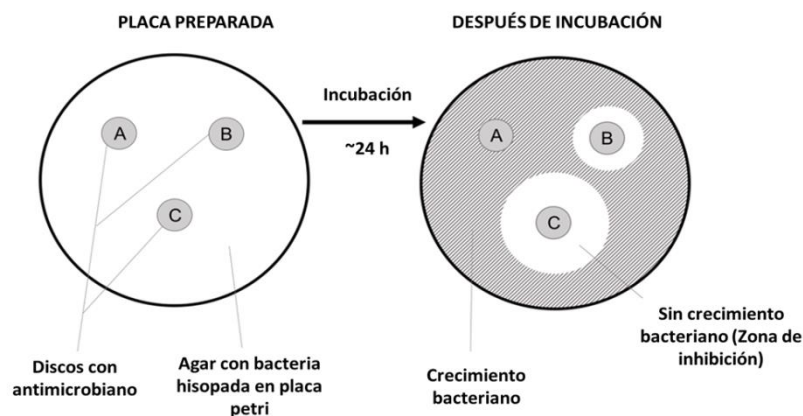
Metodología

Los inóculos deben estandarizarse a un valor de 0.5 en la escala de McFarland para aplicarse dentro de una caja Petri con agar Müeller-Hinton (MH) solidificado con un pH entre 7.2 y 7.4 medido a temperatura ambiente, con la finalidad de obtener una concentración de alrededor de 1.5×10^8 bacterias/mL (Herrera, 1999)

La técnica de inoculación será hisopado en la superficie con el fin de lograr un crecimiento confluyente, posteriormente se deben colocar los discos con el antimicrobiano impregnado en un plazo no mayor a 15 minutos y sin colocar más de cinco discos por placa. Se procede a la incubación de los cultivos a una temperatura de 35 °C a 38 °C por máximo 18 horas (Taroco, et al., 2006) y para los casos de *Staphylococcus* spp y *Enterococcus* spp no más de 24 horas (Herrera, 1999) (ver Figura 3).

Figura 3

Esquema de técnica de difusión en agar



Nota: Esquema de placa de agar de difusión antes y después del proceso de incubación [Fuente: Tomada y traducida de Wetlab, s.f.]

Interpretación de resultados

Se deben medir los diámetros de los halos de inhibición (incluyendo el disco) con ayuda de una regla o Vernier, asegurándose de que la caja se encuentre suficientemente iluminada por luz transmitida y medir siguiendo una vertical directa para evitar errores. En el caso de *Staphylococcus* spp o *Enterococcus* spp. cualquier desarrollo en el halo indica que la bacteria es resistente al agente que se probó. Existen algunas excepciones a esto como algunas cepas de *Proteus* spp que debido a su movilidad suelen tener el fenómeno de velo de invasión o “swarming” o algunos antibióticos producen un efecto “niebla” por lo que en el primer caso se debe ignorar el efecto y en el segundo no considerar en la lectura un crecimiento del 20 % o menos del desarrollo total (Sacsquispe y Velásquez, 2002). En el caso de que no se presente un halo, se debe reportar el diámetro del disco en mm (Herrera, 1999).

La sensibilidad de la cepa es reportada como: sensible (S), intermedio (I), o resistente (R) como se señala en la Tabla 6 (Taroco, et al., 2006).

De acuerdo con la tabla, un microorganismo será altamente sensible (S) si con concentraciones bajas del antimicrobiano [c] se inhibe la CMI= [c] y el diámetro de inhibición será el diámetro mayor [D]. Por otro lado, un microorganismo va a considerarse resistente (R) si en el intervalo de [c] y la concentración más alta del antimicrobiano [C] logra tener un crecimiento, por lo que CMI está por encima que [C] y el diámetro del halo de inhibición [DHI] será menor al diámetro del pot [d]. Finalmente, un microorganismo será intermedio cuando la CMI se encuentra entre [c] y [C] por lo que el diámetro de inhibición será mayor o igual a d, pero menor a D (Sacsquispe, 2002).

Tabla 6

Categorización de valores para difusión en agar

<i>Categorías</i>	<i>Concentración Mínima Inhibitoria (mg/L)</i>	<i>Diámetro del halo de inhibición (mm)</i>
S	$CMI \leq c$	$DHI = D$
R	$CMI > C$	$DHI < d$
I	$c < CMI \leq C$	$d \leq DHI < D$

[Tomado de Sacsquispe, 2002].

Ventajas y/o desventajas

Se considera que es una prueba rápida, práctica y reproducible (Citado por Bernal y Guzmán, 1984). Es el método recomendado por el NCCLS de Estados Unidos de América para determinar la sensibilidad antimicrobiana frente a antimicrobianos (Picazo, 2006). Además, su costo es bajo y sus resultados son fácilmente interpretables, sin embargo, debido a ello, la principal desventaja que presenta es que sus resultados son cualitativos; otra desventaja es que esta técnica no es aplicable para microorganismos de crecimiento lento (Herrera, 1999).

8.1.2 Dilución en agar

Es una técnica de dilución de tipo cuantitativa en la que se incorpora el antimicrobiano a evaluar a un medio con agar, normalmente es MH. Se trata de exponer a las cepas de interés a diferentes concentraciones de antimicrobianos, en una serie de placas de agar cada una con una concentración de antimicrobiano conocida y analizar su crecimiento (Picazo, 2006).

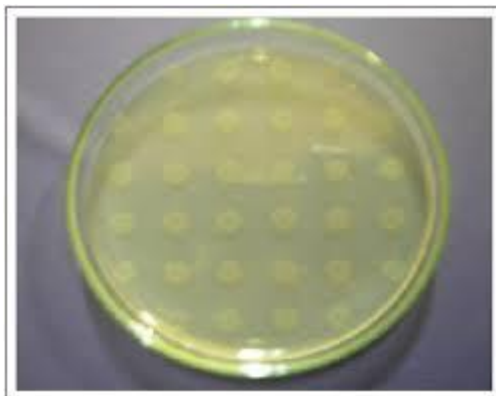
Metodología

Se prepara el medio y una vez que se encuentre a una temperatura de 50 °C se añade el antimicrobiano (habitualmente en proporción de 1:20), posteriormente es vertido en placas de Petri y se deja solidificar (Picazo, 2006).

Para el proceso de siembra se emplea un "Inoculador de Steer" el cual es una placa de metal de 32 pozos y una lámina de metal con 32 proyecciones para ser tomadas, se inocula el microorganismo estandarizado a 0.5 en la escala de McFarland (Herrera, 1999). Cada proyección tiene alrededor de 5 mm de diámetro y deja un volumen de 1 a 2 μL que contiene aproximadamente 10^4 UFC/mL, se inoculan las series de placas de menor a mayor concentración de antimicrobiano, es importante tener un control y sembrar una placa sin antimicrobiano para comprobar la pureza de estos y tener un cultivo fresco. Posteriormente se incuban a 35 °C durante 16 a 20 horas y se procede a su lectura (Picazo, 2006) (Figura 4)

Figura 4

Placa con técnica de dilución en agar.



Nota: Placa de dilución en agar después de incubación [Fuente: Solis, 2004]

Interpretación de resultados

Se considera como CMI a la menor concentración que inhibe completamente el crecimiento, sin considerar la aparición de alguna colonia aislada o de un halo tenue debido al propio inóculo. Si se observan colonias o flancos de crecimiento en concentraciones superiores a la CMI, se debe comprobar la pureza del inóculo para descartar una contaminación; en caso de ser confirmada, el estudio deberá repetirse (Picazo, 2006).

Si la cepa crece en la superficie del medio de cultivo, se reporta como resistente. Por el contrario, si no crece, se reporta como sensible (Herrera, 1999)

Ventajas y/o desventajas

Una de las ventajas que este método presenta es que pueden estudiarse una gran cantidad de microorganismos a la vez ya que cada replicador permite inocular entre 32 y 36 organismos diferentes (Picazo, 2006). Además, estas pruebas son reproducibles en sus resultados y los microorganismos no exigentes crecen con facilidad (Cavalieri, S. J., et al., 2005).

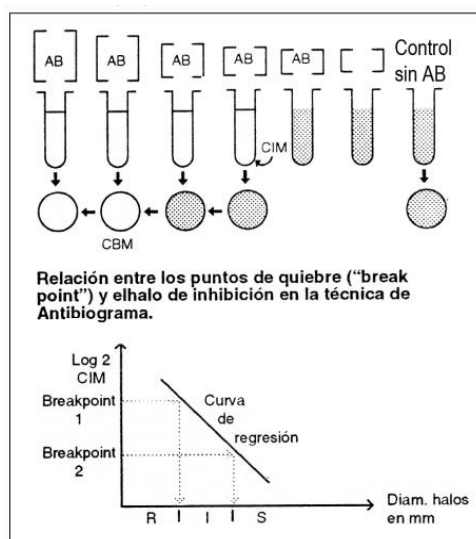
La cantidad de tiempo invertido es una de las desventajas, además de que tiene un corto tiempo de almacenamiento. Por esto, el método no se realiza en laboratorios clínicos, sino en laboratorios de investigación y regionales de referencia (Cavalieri, S. J., et al., 2005).

8.1.3 Macrodilución en caldo

Se deriva de los métodos de “dilución”, fue estandarizado en los años 70 por el Estudio Cooperativo Internacional y posteriormente por el NCCLS (Taroco, et al., 2006). De acuerdo con Taroco y otros (2006): “consiste en exponer a las cepas a estudiar a diferentes concentraciones de antimicrobianos, en diluciones a la mitad y observar el crecimiento de los microorganismos para luego definir la CIM” (Figura 5).

Figura 5

Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y de la concentración mínima bactericida (CMB) por medio de macrodilución en caldo.



Nota: Esta figura representa gráficamente la técnica de macrodilución en caldo, tomando en cuenta que AB es el agente antimicrobiano. [Fuente: Tomado de Taroco, et al. (2006)].

Metodología

Por cada antimicrobiano/microorganismo se emplea una batería de tubos con aproximadamente 1 mL de caldo Müller-Hinton (Taroco, et al., 2006). Taroco y otros (2006) señalan: “Se colocan 2 ml de solución de antibiótico en el primer tubo de la serie de diluciones. En cada uno de los tubos restantes se añade 1 mL de caldo MH. Con una pipeta estéril se transfiere 1 ml del primer tubo al segundo. Después de mezclar el contenido del segundo tubo, se transfiere 1 mL con una pipeta diferente (en esta transferencia y en todas las sucesivas) al tercer tubo”. El último de los tubos será el control sin antimicrobiano (Picazo, 2006).

Se debe estandarizar el inóculo ajustando la turbidez a una concentración de 10^5 la 10^6 UFC/mL (Taroco, *et al.*, 2006). Se añade 1 mL de este a cada tubo con antimicrobiano y medio de cultivo (Sin dejar pasar más de 15 minutos posteriores a la estandarización). Cada tubo debe tener un volumen mínimo de 1 mL, posteriormente ser agitado e incubado a 35 °C por 16 a 20 horas (Cavaliere, *et al.*, 2005)

Interpretación de resultados

Tras el tiempo de incubación, se determina que la CIM es la del tubo al que se inhibió el crecimiento del microorganismo por observación directa sin ayuda de aparato óptico (Cavaliere, *et al.*, 2005). Para obtener la CMB, de aquellos tubos en los que no se observe crecimiento, se extraen 10 μ L y se inoculan en el medio de cultivo enriquecido, se incuba de 16 a 20 horas y luego se cuentan las colonias que crecen y esto se refiere al conteo bacteriano del inóculo inicial (Herrera 1999).

Ventajas y/o desventajas

Picazo (2006) considera que la metodología es muy engorrosa, porque se usa mucho material, además de requerir muchas manipulaciones, pero se controlan mejor las variables técnicas.

8.1.4 Microdilución en caldo

Sigue el principio de la macrodilución, sin embargo; existen dos diferencias significativas: el empleo de placas de microtitulación y la necesidad de hacerlo por duplicado (Picazo, 2006).

Metodología

La cepa para estudiar se prepara con las mismas condiciones y con los mismos controles que la macrodilución (Citado por Herrera, 1999). Se realiza en placas de microtitulación que tienen 96 pocillos (12 mm x 8 mm) (Castaño y Ramírez, 2009). Cada pocillo de esta placa representa uno de los tubos del método de macrodilución y su volumen total suele ser de 100 μ L (Picazo, 2006).

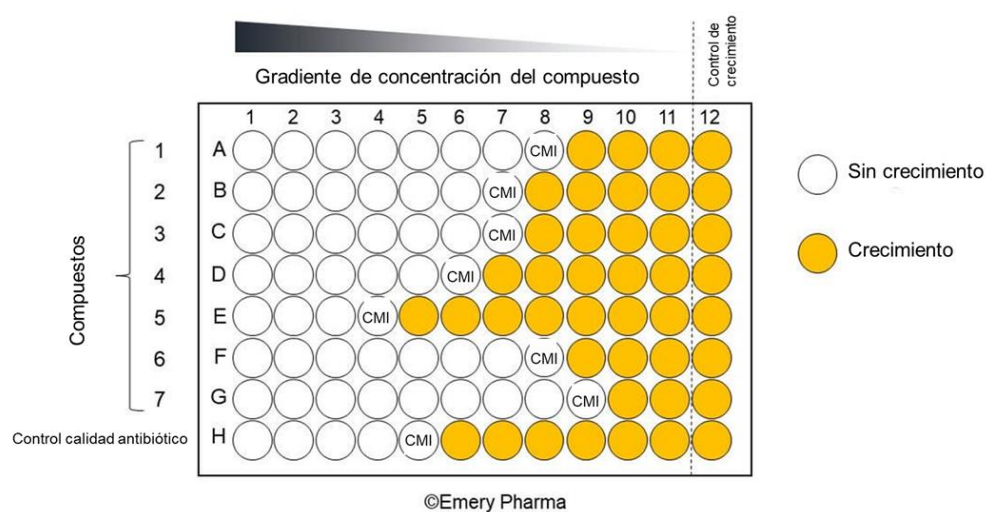
Se deben incubar a 35 °C por 16-20 horas evitando apilar más de 4 placas. Para prevenir la deshidratación de los paneles se deben tapar con: un sello plástico, una funda plástica o tapa (Cavaliere, S. J., *et al.*, 2005).

Interpretación de resultados

Se realiza de la misma forma que la macrodilución; pero debido al tamaño, la interpretación se facilita al observar el crecimiento del control positivo como referencia los cuales presentan una clara turbidez o un botón de al menos 2 mm de diámetro (Figura 6), si es necesario limpiar la parte inferior de la placa se puede hacer con papel absorbente (Picazo, 2006). También se puede añadir bromuro de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5- difeniltetrazolio (MTT), la formación de un precipitado insoluble (formazán) en forma de cristales violeta evidencia la actividad metabólica de las células y, por lo tanto, la existencia de células vivas (Castaño y Ramírez, 2009).

Figura 6

Interpretación de resultados de microdilución en caldo.



Nota: Esquema de interpretación de resultados para placa de microdilución [Fuente: Tomada y traducida de ©Emery pharma, s.f.]

Ventajas y/o desventajas

La NCCLS recomienda la microdilución en placa caldo a la macrodilución (Picazo, 2006). La ventaja sobre los métodos de difusión radica en un aumento de la sensibilidad para cantidades pequeñas; permite diferenciar entre un efecto bactericida o bacteriostático (Castaño y Ramírez, 2009); además, son fácilmente integrables en sistemas semiautomáticos de lectura e interpretación de resultados, pero su costo incrementa bastante (Taroco, et al., 2006), otra de las desventajas es que esta técnica consume una gran cantidad de tiempo y trabajo (Citado por Herrera 1999).

8.1.5 Épsilon test (E test)

Es un método de tipo cuantitativo (Taroco, et *al.*, 2006). Su descripción es reciente y representa una combinación entre el método de difusión en disco y la dilución en agar (Rey, 2008). Consiste en una tira de plástico no poroso de 6 cm de largo por 5 mm de ancho que incorpora un gradiente predefinido de antimicrobiano equivalente a 15 diluciones. Su principio se asemeja a la técnica de difusión en disco; sin embargo, en este método se puede realizar una lectura directa para determinar la CMI (Taroco, et *al.*, 2006).

Metodología

Para la preparación previa se utiliza agar sangre con una base de agar MH, HTM o chocolate suplementado y 5 % de sangre de caballo o cordero (Citado por Herrera 1999), o bien, se puede emplear agar MH únicamente (Taroco, et *al.*, 2006) Para el inóculo se resuspenden colonias del microorganismo a estudiar en agua destilada y se ajusta a 3 en la escala de McFarland (Rey, 2008). En cuanto a las tiras deben atemperarse a temperatura ambiente por lo menos tres minutos antes de usarse ya que su almacenamiento es a menos de 20 °C, deben estar protegidas de la humedad en todo momento (Taroco, et *al.*, 2006).

Posteriormente, se inocula el microorganismo por el método de extensión en placa con ayuda de un hisopo y se colocan las tiras en posición radial (no más de 6 por placa) (Aracil, et *al.*, 2009). Es importante dejar secar este de 10 a 15 min para asegurar que la superficie de agar estará completamente seca, que toda la tira se encuentre en contacto con el agar y que no se deben mover las tiras una vez que han sido colocadas, debido a que la difusión del antibiótico es muy rápida (Taroco, et *al.*, 2006).

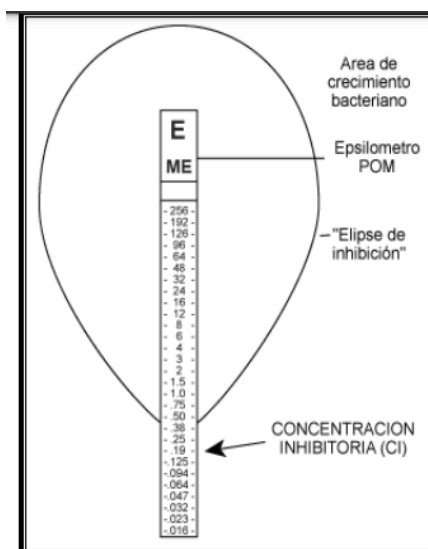
Finalmente se incuban las placas de acuerdo a los requerimientos óptimos de la cepa en estudio, generalmente durante 16 a 20 h a 37 °C y se procede a la interpretación de resultados (Taroco, et *al.*, 2006).

Interpretación de resultados

Tras la incubación se forma un área de inhibición elíptica, en la que la CMI puede interpretarse directamente (Rey, 2008). El proceso de lectura se debe realizar muy cuidadosamente, se puede realizar con lupa (Citado por Herrera, 1999).

Figura 7

Lectura de resultados de E-test



Nota: Prueba de E-test finalizada [Tomada de Coyle, 2000]

La CMI es aquella que se encuentra en la interfase de la elipse (**Figura 7**) (Citado por Herrera, 1999). Si se observan sombras o crecimiento de colonias pequeñas en el punto de corte, se considera que la CMI es la concentración inmediatamente superior (Aracil, et al., 2009).

Si no se observa la elipse de inhibición debido a que hay crecimiento a lo largo de toda la tira, la CMI se informará como superior al valor máximo de la escala de lectura, por el contrario, si la elipse se encuentra por debajo de la escala se informa como inferior al valor mínimo de la escala de lectura (Picazo, 2006).

Ventajas y/o desventajas

El E-test ha hecho más fácil y eficiente la determinación de la CMI, además de abarcar una amplia gama de microorganismos desde los no exigentes hasta los que tienen requerimientos especiales como los anaerobios, o levaduriformes (Citado por Herrera, 1999 y Rey, 2008).

Sus resultados son altamente reproducibles; sin embargo, ofrece valores de CMI ligeramente superiores a los otros métodos (Picazo, 2006) también su costo es más elevado en comparación con otras técnicas por lo que su uso se puede ver limitado (Martínez, 2003).

8.1.6 Métodos automatizados

Existen diferentes métodos automatizados de antibiogramas que cada vez mejoran más e, incluso permiten dar resultados el mismo día, estos incluyen métodos de lectura digital, moleculares, sistemas informáticos, entre otros (Martínez, 2003).

Martínez (2003) menciona que entre los métodos existentes se encuentran: VITEK 2 System (bioMérieux-Vitek, Hazelwood, EE.UU.), WalkAway System (Dade Behring Inc., EE.UU.), Phoenix Automated Microbiology System (BD Biosciences EE.UU.), o Sensititre ARIS. Entre ellos se presentan diferencias como la rapidez, confiabilidad y sensibilidad de los resultados además de los costos que conlleva el mantenimiento, necesidad de algún software específico con capacidad de controlar mecanismos intrínsecos y adquiridos y su control de calidad (Bonvehi et *al.*, 2005).

9. CONSIDERACIONES EN LA ELECCIÓN DE CONSERVADOR PARA UN PRODUCTO ALIMENTICIO

Una de las decisiones a tomar al desarrollar un nuevo producto es la adecuada selección de los ingredientes y aditivos se usarán. En el caso particular de los conservadores se deben tomar en consideración varios aspectos:

9.1 Características intrínsecas

Todos los alimentos presentan ciertas características fisicoquímicas que influyen en la facilidad de que un alimento desarrolle microorganismos patógenos o indicadores dentro de éste. Dentro de los principales son:

pH

El pH de un alimento determina qué tan propenso es el alimento al desarrollo de microorganismos, mientras los valores estén cercanos al neutro, crecerán con mayor facilidad. Cuando el pH sea menor a 4, no habrá crecimiento ni de indicadores ni patógenos (Leyva, V. *et al.*, 2011).

Actividad de agua

Se refiere al agua disponible o no ligada de los alimentos, los microorganismos se desarrollan a los valores más cercanos a 1 (0.9993 - 0.9998) a medida que hay menor agua disponible, disminuye la probabilidad de que los microorganismos se desarrollen en él (Leyva, V. *et al.*, 2011).

Humedad

La humedad presente en un alimento suele ser un indicador de su estabilidad, ya que existe una relación, aunque no perfecta, entre el contenido de agua en los alimentos y su capacidad de deterioro. Altos niveles de humedad aceleran los procesos de degradación hidrolítica de los componentes de los alimentos y favorecen el crecimiento de microorganismos (Luna, 2014)

Composición de Macronutrientes

Existen alimentos más vulnerables al deterioro debido a la composición de macronutrientes que contiene. La carne y el pescado son un ejemplo de ellos debido a que tienen un alto contenido de proteínas y agua. Una clasificación fácil para los alimentos es la de: Perecederos (Aquellos que pierden sus cualidades organolépticas antes de 48 horas), semi-perecederos (Duran más de 48 horas y hasta 3 meses) y no

perecederos (vida útil de más de 3 meses) (Salvatierra I. M., 2019). Algunos ejemplos de alimentos perecederos son: Aquellos compuestos total o parcialmente de leche, productos lácteos, huevos, carne, aves de corral, pescado o mariscos, o de ingredientes que permitan el crecimiento progresivo de microorganismos (Comisión de Codex Alimentarius, 1995).

9.2 Características extrínsecas

Proceso

El proceso del nuevo producto determinante para eliminar microorganismos o bien, promover el crecimiento de microorganismos de interés. Por ejemplo, el freído u horneado son puntos que, si se realizan de la manera adecuada, pueden eliminar los microorganismos vegetativos que pueden tener, si el producto no se expone a posibles contaminaciones como el manejo manual de este.

Igualmente, existen pasos del proceso dedicados a reducir la carga microbiana como la pasteurización, radiación, altas presiones hidrostáticas y Pulsos eléctricos de alta intensidad, siendo los últimos tres tecnologías que requieren de un equipo especializado costoso, por lo que requiere inversión inicial si quieres utilizarlos en un nuevo producto.

Empaque

Los empaques ayudan a reducir al mínimo el riesgo de contaminación y protegerlo del posible desarrollo de microorganismos una vez que estén procesados. La elección de un empaque adecuado es un paso de suma importancia para evitar el deterioro del alimento, ya que dependiendo de la matriz (animal, vegetal, lácteo, grasas, etc) es el tipo de material óptimo para contenerlos. Algunas de las cosas más importantes a tomar en cuenta son: Factores climáticos, contaminación (microorganismos, plagas, etc), tipo de manipulación, composición química del producto, etc. (Axtell, B., & Oti-Boateng P., 1998).

Inocuidad

Uno de los puntos más importantes en los procesos alimentarios son los prerrequisitos, los cuales “se refieren al control de aspectos que pueden suponer un peligro y afectar a la seguridad alimentaria en todas o al menos varias de las etapas del proceso productivo” cada establecimiento decide cuáles son sus prerrequisitos de

acuerdo con su proceso. Un ejemplo de ellos es el Plan Maestro de Limpieza o Buenas prácticas de Manufactura (Mena, M., 2014).

10. DISCUSIÓN

Se realizó una búsqueda bibliográfica de las siguientes palabra clave en español: “Conservadores alimenticios” y “Concentración mínima Inhibitoria” y en inglés: “Food preservative” “Minimum Inhibitory Concentration” de artículos escritos a partir de año 2019, para identificar las tendencias en el uso de conservadores, así como la metodología empleada para corroborar su efecto inhibitorio.

De la búsqueda anterior, se revisaron 30 publicaciones científicas en inglés y español en los que se encontraron los dos métodos más utilizados para estimar la concentración mínima inhibitoria de un posible conservador alimenticio, como se muestra en la Tabla 7. Las citas completas de dichos artículos se encuentran en el Anexo 2.

Tabla 7

Metodologías utilizadas para la estimación de CMI en 30 publicaciones científicas seleccionadas. (Periodo de publicación 2019-2023).

Metodología utilizada	No. De Artículos	Porcentaje
Macrodilución	5	16.6%
Difusión en disco	13	43.3%
Microdilución	12	40%

Fuente: Elaboración propia

De igual manera, de esa selección de publicaciones se revisaron cuáles son las tendencias que actualmente se están siguiendo en el tipo de conservadores desarrollados por la ciencia y los resultados fueron los siguientes:

Tabla 8

Conservadores evaluados en 30 publicaciones científicas seleccionadas. (Periodo de publicación 2019-2023).

Tipo de Conservador	No. De Artículos	Porcentaje
Químico	2	6.7%
Aceite esencial	9	30%
Extracto natural	5	16.7%
Péptidos	1	3.3%
Bacteriocina	2	6.7%

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 8 se puede observar el claro apego a las tendencias mencionadas anteriormente, ya que alrededor del 93 % de los conservadores estudiados son referentes a los naturales ya que solo 2 de los 30 artículos revisados son enfocados a conservadores de origen químico. Esto también se puede asociar a que los conservadores químicos fueron estudiados en las décadas de los 50, cuando se volvió más habitual su uso en la industria alimentaria y alrededor de 1980 comenzó el revuelo por su uso, ya que comenzaron a ser calificados como “peligrosos” (Lurueña, 2019). recalcando que un total de 7 de los 14 artículos referentes a extractos o aceites esenciales, se refieren al “encapsulamiento” o “nano encapsulado” con el fin de minimizar la principal desventaja que representa el uso de este tipo de compuestos frente a los más utilizados, la cual se refiere a que su uso altera las características sensoriales de la matriz en donde se está aplicando.

Como resultado de esta revisión se observó que 24 de los 30 fueron enfocados en la inhibición de bacterias patógenas, 4 únicamente a hongos y 2 a hongos y bacterias. Es importante resaltar que en los artículos se realizaban pruebas de CMI a varios microorganismos, en total 14 diferentes microorganismos o grupo de ellos (Tabla 9), principalmente para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, los cuales son importantes indicadores de contaminación de producto por mala manipulación de estos.

Tabla 9

Microorganismos contra los que se realizó CMI de conservadores evaluados en 30 publicaciones científicas seleccionadas. (Periodo de publicación 2019-2023).

Nombre del microorganismo o grupo de microorganismos	No. de Menciones
<i>Staphylococcus aureus</i>	17
<i>Escherichia coli</i>	14
Entéricas oportunistas	10
<i>Listeria spp</i>	9
<i>Salmonella spp</i>	9
Hongos	9
<i>Pseudomonas spp</i>	6
<i>Bacillus cereus</i>	5
Otros	4
<i>Shigella spp</i>	2
<i>Vibrio spp</i>	2
<i>Enterobacter sakazaki</i>	1
<i>Bacillus subtilis</i>	1
<i>Clostridium perfringens</i>	1

Fuente: Elaboración propia.

11. CONCLUSIONES

Existe un método para conocer la Concentración Mínima Inhibitoria dependiendo de las necesidades específicas de cada autor, ya que no se tiene limitación de metodologías para comprobar la efectividad de un conservador.

Hay una clara tendencia en el uso de conservadores de origen natural y la mayoría de los artículos investigados basados en aceites esenciales y extractos naturales se orientan a procesos de encapsulación para disminuir el efecto en el perfil de sabor de los productos alimenticios en los que se aplican, sin embargo, en cada uno de los artículos y trabajos científicos consultados, se utiliza un método para conocer la Concentración Mínima Inhibitoria.

Es importante mencionar que a pesar de que las metodologías para conocer la Concentración Mínima Inhibitoria han avanzado de manera significativa y existen nuevas tecnologías, sin embargo, la mayoría de los investigadores aún utilizan las metodologías de difusión en disco y macro dilución, debido a que son un método claro, confiable y económico a diferencia de otros métodos.

A partir de la revisión bibliográfica realizada se observa que la industria de los conservadores se encuentra en constante cambio, adaptándose a las necesidades y tendencias del mercado.

Referente a los microorganismos, los más mencionados son aquellos que se encuentran naturalmente en los humanos, no necesariamente los que representan un problema grave de salud, pero si los más comunes de encontrar por fallas en la aplicación seguimiento de sistemas de inocuidad.

Con la información recopilada se conocieron todos los factores que influyen en la elección de un conservador como lo son tendencias, metodologías de efectividad, legislación, tipo de alimento y microorganismos para inhibir.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Akarca, G. (2019). Composition and antibacterial effect on food borne pathogens of *Hibiscus surrattensis* L. calyces essential oil. *Industrial Crops and Products*, 137, 285-289.
- Aracil, B., Gil, Y. y Gómez, J. L. (2009). Comparación entre dilución en agar y otras 3 técnicas para la determinación de la sensibilidad de 228 aislamientos clínicos de bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(6), 331-337.
- Arias, D. M. y Claro, J. E. (2006). *Evaluación de cinco conservantes adicionados sobre diferentes tipos de almidones para ser empleados en procesos de restauración en el patrimonio documental*. [Trabajo de grado, Licenciatura en Microbiología Industrial]. Pontificia Universidad Javeriana.
- Araujo, C. F. (2019). *Efecto antimicrobiano de aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y tomillo (*Thymus vulgare*) individuales y en combinación contra *Salmonella Typhimurium**. [Tesis Doctoral, Escuela Agrícola Panamericana]
- Asioli, D., Aschemann-Witzel, J., Caputo, V., Vecchio, R., Annunziata, A., Næs, T., & Varela, P. (2017). *Making sense of the “clean label” trends: A review of consumer food choice behavior and discussion of industry implications*. *Food Research International*, 99, 58-71.
- Axtell, B., & Oti-Boateng P. (1998). Libro de consultas sobre tecnologías aplicadas al ciclo alimentario. Técnicas de envasado y empaque. *Lima: ITDG-Perú*.
- Barry, A. L. (1976). *The antimicrobial susceptibility test: principles and practices*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Bernal, M., y Guzmán, M. (1984). El antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-Bauer. *Biomédica*, 4(3-4), 112-121.
- Bhat, Z. F., Morton, J. D., Mason, S. L., & Bekhit, A. E. D. A. (2019). Current and future prospects for the use of pulsed electric field in the meat industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(10), 1660-1674.

Bioser. (sin fecha). Deterioro de alimentos: Microorganismos responsables y alimentos afectados. Bioser. <https://www.bioser.com/deterioro-de-alimentos-microorganismos-responsables-y-alimentos-afectados/>

Bonvehi, P., Lanza, A., Mikietuk, A., Nazar, J., Smayevsky, J., Vargas, L. J., ... y Vila, A. (2005). Utilidad del sistema VITEK en la identificación bacteriana y estudios de sensibilidad antimicrobiana. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 39(1), 19-25.

Boukhatem, M. N., Boumaiza, A., Nada, H. G., Rajabi, M., y Mousa, S. A. (2020). Eucalyptus globulus essential oil as a natural food preservative: Antioxidant, antibacterial and antifungal properties in vitro and in a real food matrix (orangina fruit juice). *Applied Sciences*, 10(16), 5581.

Brock, M., y Buckel, W. (2004). *On the mechanism of action of the antifungal agent propionate*. *European Journal of Biochemistry*, 271(15), 3227–3241.

Cacao, J. V., y Mora, C. A. (2019). *Caracterización para el desarrollo de un inhibidor de crecimiento bacteriano a partir del ajo (Allium sativum) para superficies de trabajo en la cocina*. [Tesis de Grado, Universidad de Guayaquil]. Repositorio Institucional de Guayaquil. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/41949>.

Carrillo, E. B. (2020). *Evaluación de la capacidad inhibitoria de mezcla de aceites esenciales de albahaca (Ocimum basilicum) y orégano (Origanum vulgare) en Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes y Salmonella typhimurium*. [Tesis de Grado, Universidad de Guayaquil]. Repositorio tesis Universidad de Guayaquil. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/50594>

Castillo, K. S., y Quimi, A. P. (2022). *Estudio bibliográfico de la composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial romero (Rosmarinus officinalis)*. [Tesis Doctoral, Universidad de Guayaquil]. Repositorio tesis Universidad de Guayaquil. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/65519>

Cavaliere, S. J., Harbeck, R. J., McCarter, Y. S., Ortez, J. H., Rankin, I. D., Sautter, R. L. y Spiegel, C. A. (2005). Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. *Seattle: University of Washington*.

Cazares, A. G., Rodríguez, J., Sánchez, E., De Lara, J., García, K., Leos, C., y Castillo, S. (2023). Efecto del aceite esencial de orégano y sus fracciones concentradas en el crecimiento de *Aspergillus brasiliensis* (niger). *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 8(1), 132-139.

Christian. (2019, 29 de Mayo). Los conservantes alimentarios más utilizados en el mercado de los alimentos. *Pilarica*. <https://www.pilarica.es/los-conservantes-alimentarios-mas-utilizados-mercado-los-alimentos/>

Cisterna Cáncer, R. (2007, Mayo). Microbiología. *Más Dermatología*, 1(1), 25-27. <https://masdermatologia.com/PDF/0006.pdf>

Coffield, J. y Whelchel, D. 2007. Botulinum neurotoxin. *Veterinary Toxicology*, 755-770.

Comisión de Codex Alimentarius. (1995). *Codex Alimentarius: Volumen 1B, Requisitos generales (higiene de los alimentos)*. FAO.

Coyle, M. B. (2000). *Manual de pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana*. Department of Laboratory Medicine and Microbiology. Organización Panamericana de la Salud. Universidad de Washington. Editora Coordinadora Washington-U.S.A.

Comisión Europea [CE]. (2011, 11 de Noviembre). REGLAMENTO (UE) No 1129/2011 DE LA COMISIÓN por el que se modifica el anexo II del Reglamento (CE) no 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo para establecer una lista de aditivos alimentarios de la Unión. *Diario Oficial de la Unión Europea*.

Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios [COFEPRIS]. (2012, 22 de Junio). Acuerdo o documento por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias. *Diario Oficial*.

Das, S., Singh, V. K., Dwivedy, A. K., Chaudhari, A. K., y Dubey, N. K. (2021). Nanostructured Pimpinella anisum essential oil as novel green food preservative against fungal infestation, aflatoxin B1 contamination and deterioration of nutritional qualities. *Food Chemistry*, 344, 128574.

De Sá Silva, C., de Figueiredo, H. M., Stamford, T. L. M., y da Silva, L. H. M. (2019). Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil in ground beef. *International Journal of Food Microbiology*, 293, 79-86.

Duarte, R. A. (2001). Importancia del sorbato de potasio en la industria alimentaria [Trabajo de grado, Ingeniero Químico]. Universidad Nacional Autónoma de México.

Emery pharma. (Sin fecha). *Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) Assay*. ©Emery pharma. <https://emerypharma.com/biology/minimum-inhibitory-concentration/>

Falleh, H., Jemaa, M. B., Saada, M., & Ksouri, R. (2020). Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. *Food Chemistry*, 330, 127268.

Fernández, D. G., Llamas, L. F., González, A. R., y Suárez, P. G. (2020). Bacteriófagos y endolisinas en la industria alimentaria. *Arbor*, 196(795), 544.

Finsterer, J. (2022). *Triggers of Guillain–Barré syndrome: campylobacter jejuni predominates*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22), 14222.

Food Drug Administration [FDA]. (2012). *Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins*. Segunda edición. Food Drug Administration [FDA]. <https://www.fda.gov/food/foodborne-pathogens/bad-bug-book-second-edition>

Food Drug Administration [FDA]. (2022). *La Irradiación de alimentos: Lo que usted debe saber*. <https://www.fda.gov/food/buy-store-serve-safe-food/la-irradiacion-de-alimentos-lo-que-usted-debe-saber>

Frazier, W. C. y Westhoff, D. C. (1993). *Microbiología de los alimentos* (4.a ed.). (Ramis, M. trad.). España, Acribia S.A. (Obra original publicada en 1988).

Furia, E. (1998) *CRC Handbook of food additives*. Segunda. Edición. USA.

Gao, Y., Xu, D., Ren, D., Zeng, K., y Wu, X. (2020). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Citrus sinensis* peel extract and application to strawberry preservation: A comparison study. *Lwt*, 126, 109297.

García, F. T., y Trauco, M. Á. (2022). Actividad bactericida del extracto etánolico de *Aloysia citrodora* “cedrón” en bacterias alteradoras de carne fresca. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 5(1), 44-49.

García, P., Valenzuela, N., Rodríguez, M., León, E., y Fernández, H. (2009). Susceptibilidad antimicrobiana de *Campylobacter jejuni* aislado de coprocultivos en Santiago de Chile. *Revista chilena de infectología*, 26(6), 511-514.

García, R. M. (2005). *Agentes bactericidas/bacteriostáticos a partir de sorbato de potasio, carvacrol y timol*. [Trabajo de grado, Maestría en Ciencia de Alimentos]. Universidad de las Américas Puebla.

Gonzales, K., Salazar, M. E., y Fuertes, C. M. (2022). Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Minthostachys mollis* Griseb." Muña" y Piper carpunya Ruiz y Pav." Pinku". *Ciencia e Investigación*, 24(2), 21-26.

González, M. C. (2022). *Tratamientos para minimizar las pérdidas por Penicillium expansum en poscosecha de manzanas*. [Tesis de Grado, Universidad de la Republica].

Guerrero, P. P., Sánchez, F. G., Saborido, D. G., y Lozano, I. G. (2014). Infecciones por enterobacterias. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 11(55), 3276-3282.

Guillen, I. (2019). *Conservantes y antioxidantes naturales clear and clean: nuevas tendencias en el desarrollo de conservantes y antioxidantes naturales*. Food tech: Prosur.

Hablemos claro. (2017). Propionato de Sodio. *Hablemos claro*. <https://hablemosclaro.org/ingrepedia/propionato-de-sodio/#1502295069328-2e671aa5-7c2b>

Hemeg, H. A., Moussa, I. M., Ibrahim, S., Dawoud, T. M., Alhaji, J. H., Mubarak, A. S., ... y Marouf, S. A. (2020). Antimicrobial effect of different herbal plant extracts against different microbial population. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3221-3227.

Hernández, M. Á. (2016). *Microbiología de los alimentos: fundamentos y aplicaciones en ciencias de la salud*. Editorial Médica Panamericana.

Herrera, F. y Santos, J. (2015). Genes enterotoxigénicos en cepas de *Staphylococcus* spp., aisladas a partir de queso elaborado en Pamplona-Colombia. *Revista MVZ Cordoba*, 20 (1), 4472-4481.

Herrera, M. L. (1999). Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, 34, 33-41.

Hiperbaric. (2021). *Productos no aptos para el procesado por altas presiones (HPP)*. Hiperbaric. <https://www.hiperbaric.com/es/productos-no-aptos-para-el-procesado-por-altas-presiones-hpp/>

Horna, G., Silva, M., Tamariz, J. y Vicente, W. (2005). Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. *Revista Medica Herediana*, 16(1), 39-45.

International Atomic Energy Agency. (Sin fecha). *Irradiación de alimentos: beneficios, usos, normas*. <https://www.iaea.org/topics/food-irradiation>.

Islas, J. (2019). *Elaboración y caracterización de péptidos antimicrobianos encapsulados en soportes biopoliméricos, con potencial aplicación biotecnológica*. [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo]. Repositorio de UAEH. <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/jspui/handle/231104/2573>.

Inungaray, M. L., y Reyes, A. (2013). Vida útil de los alimentos. *Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias: CIBA*, 2(3), 3.

León, M. E. (2005). *Evaluación de eficiencia de dos marcas diferentes de benzoato de sodio en zumo de naranja sobre pruebas microbiológicas*. [Trabajo de grado, Licenciatura en biología]. Universidad Ricardo Palma.

Leyva, V., Martino, T. K., Puig, Y., Carrera, J., y Cabrera, M. R. (2011). *¿ Qué factores influyen en el crecimiento y supervivencia de los microorganismos en los alimentos*. Monografía en Internet.

López, G. P. (2013). *Fotoinactivación de especies fúngicas patógenas mediante hipericina, TMPyP y NMB como agentes sensibilizantes fotodinámicos*. [Trabajo de grado, Doctorado en Bioingeniería]. Universitat Ramon Llull.

Lopez, R. (2020). *EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL ARANDANO AZUL (Vaccinium corymbosum) COMO INHIBIDOR DE LA Escherichia coli EN CONDICIONES In vitro*. [Tesis Doctoral, Universidad Agraria de Ecuador].

Lück, E. y Jager, M. (1995). *Conservación química de los alimentos. Características, usos y efectos*. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España.

Luis, S. T., Ramírez, J. A., Lamela, C. P., Vázquez, M., y Gándara, J. S. (2001). *Aplicación de la alta presión hidrostática en la conservación de los alimentos*. Ciencia y Tecnología Alimentaria, 3(2), 66-80.

Luna, Z. (2014). *Determinación de humedad en alimentos, Balance de materia y energía, Costos de calidad* [Tesis de grado, Universidad Nacional de San Agustín].

Lurueña, M. A. (2019, 28 de Octubre). Lo que deberías saber sobre los aditivos alimentarios. *EROSKI Consumer*. <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/que-deberias-saber-sobre-aditivos-alimentarios.html>

Machorro, V. S. (2006). *Determinación cualitativa y cuantitativa de benzoato de sodio en chiles jalapeños encurtidos de mayor consumo en la ciudad de Guatemala*. Universidad de San Carlos de Guatemala.

Mena, M. (2014). *Prerrequisitos y Sistema HACCP en la Industria Alimentaria*. Tesis de grado, Universidad de Valladolid].

Majewska, E., Kozłowska, M., Gruszczynska-Sekowska, E., Kowalska, D., y Tarnowska, K. (2019). Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil: extraction, composition, bioactivity and uses for food preservation-a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 69(4).

Márquez, A. S., Nevárez, S., Lerma, J. C., Hernández, L. R., Nevárez, G. V., Gutiérrez, N., ... y Salas, E. (2020). In vitro antibacterial activity of *Hibiscus sabdariffa* L. phenolic extract and its in situ application on shelf-life of beef meat. *Foods*, 9(8), 1080.

Martínez, A. R. (2019). *Evaluación de mezclas a partir de la endolisina PlyP100, nisina, arginato laurico y 8-polisina con efecto antimicrobiano sobre Listeria*

monocytogenes en queso panela. [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Querétaro]. Repositorio tesis UAQ. <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/1446>

Martínez, L. (2003). El futuro de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 21(Supl 2), 64-71.

Martínez, L. (2021). *Estudio de la actividad antimicrobiana de diferentes compuestos de aceites esenciales frente Alicyclobacillus acidoterrestris*. [Tesis de Maestría, Universidad Politecnica de Valencia].

Maurya, A., Prasad, J., Das, S., y Dwivedy, A. K. (2021). Essential oils and their application in food safety. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 653420.

Nazari, M., Ghanbarzadeh, B., Kafil, H. S., Zeinali, M., y Hamishehkar, H. (2019). Garlic essential oil nanophytosomes as a natural food preservative: Its application in yogurt as food model. *Colloid and interface science communications*, 30, 100176.

Ordoñez, A. (2020). *Evaluación del efecto inhibitorio de mezclas binarias de aceites esenciales en fase de vapor contra Salmonella Serovar Montevideo en condiciones in vitro*. [Tesis de grado, Benémerita Universidad Autónoma de Puebla]. Repositorio Institucional BUAP. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/items/3a439ab1-f333-4358-9492-459940c0c07b>

Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2015). *Estimaciones de la OMS sobre la carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria*. Organización Mundial de la Salud [OMS].

Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2020, 30 de abril). Inocuidad alimentaria. *Organización Mundial de la Salud*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>

Organización Mundial de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura [FAO] y Organización Mundial de la Salud [OMS]. (1995). *Norma General para los Aditivos Alimentarios. CODEX STAN 192-1995*. Organización Mundial de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura [FAO] y Organización Mundial de la Salud [OMS].

Ortegón, I. (2017). *Presencia de Staphylococcus aureus en alimentos y manipuladores de restaurantes escolares del sur del departamento del Tolima*. [Tesis de Grado, Universidad de Tolima].

Palavencino, F. (2017). *Determinación de la concentración de nitritos en salchichas tipo Viena de marcas comerciales*. [Tesis de Grado, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires].

Pedraza, J. G., Sanandres, N. P., Varela, Z. S., Aguirre, E. H., y Camacho, J. V. (2014). Aislamiento microbiológico de Salmonella spp. y herramientas moleculares para su detección. *Salud Uninorte*, 30(1), 73-94.

Pelayo, M. (2008, 18 de enero). Conservantes naturales. *Consumer Eroski*. <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/conservantes-naturales.html>

Perdomo, I., y Melendez, P. (2004). Determinación y aislamiento de Staphylococcus aureus y Clostridium perfringens enterotoxigénicos a partir de alimentos. *Revista Colombiana de Ciencias Químicas Farmacéuticas*, 33 (1), 59-69.

Picazo, J. (2006). Procedimientos en microbiología clínica. *Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*.

Placencia, S., Castillo, S., Torres Álvarez, C., Treviño, M., Gallardo, C., y Báez, J. G. (2020). Caracterización biológica de aceites esenciales de toronja y limón y sus fracciones concentradas. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 5, 103-107.

Prats, G., & Mirelis, B. (1998). Género Shigella: aspectos prácticos para el laboratorio de microbiología. *Boletín de Control de Calidad SEIMC*, 10, 15-23.

Portuondo, I. P. (2012). Bacillus cereus y su papel en las intoxicaciones alimentarias. *Revista Cubana de Salud Pública*, 38(1), 98-108.

Quiroz, R. (2004). *Panorama actual de la normatividad sobre conservadores para alimentos* [Trabajo de grado, Licenciatura en Química Farmacéutico Biólogo]. Universidad Nacional Autónoma de México.

Ramírez, S. L. (2001). Shigelosis (disentería bacilar). *Salud en tabasco*, 7(3), 0.

Ramos, M. E. H., & Trujillo, F. T. *Campylobacter jejuni*. Claudy L. Villagrán Padilla, 63.

Ran Industrias Químicas. (Sin fecha). Antimo® Sodio Propionato de Sodio. *Ran Industrias Químicas*.
http://www.ransa.com/productos_industrias/alimentos_bebidas/conservantes/antimo_n_a_propionato_de_sodio/

Rey, A. (2008). *Comparación de las características operativas de la prueba E-Test con la prueba dilución en Agar para determinar susceptibilidad antimicrobiana en aislamientos clínicos de Helicobacter pylori: revisión sistemática*. [Trabajo de grado, Licenciatura en bacteriología]. Pontificia Universidad Valeriana.

Rossi, L., Watson, D., Escandarani, S., Miranda, A., & Troncoso, A. (2009). *La radiación a la mesa*. *Revista chilena de infectología*, 26(4), 318-330.

Sacsquispe, R., y Velásquez, J. (2002). Presentación del manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco de difusión. Serie de normas técnicas N° 30. *Ministerio de Salud del Perú*.

Salvatierra I. M., (2019). Manual conservación de alimentos. INACAP. *Obtenido* http://www.inacap.cl/web/material-apoyocedem/profesor/Gastronomia/Manuales/Manual_Conservacion_de_Alimentos.pdf.

Secretaría de Salud. (1988, 18 enero). Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios. *Diario Oficial*.

Señorans, F. J., Ibáñez, E., y Cifuentes, A. (2003). New trends in food processing. *Critical reviews in food science and nutrition*, 43(5), 507-526.

Shi, Y. G., Bian, L. Q., Zhu, Y. J., Zhang, R. R., Shao, S. Y., Wu, Y., ... y Sun, H. (2019). Multifunctional alkyl ferulate esters as potential food additives: Antibacterial activity and mode of action against *Listeria monocytogenes* and its application on American sturgeon caviar preservation. *Food Control*, 96, 390-402.

Sidhu, P. K., y Nehra, K. (2020). Bacteriocin-capped silver nanoparticles for enhanced antimicrobial efficacy against food pathogens. *IET nanobiotechnology*, 14(3), 245-252.

Solis, G. A. (2004). *Susceptibilidad de Arcobacter butzleri a metales pesados* [Trabajo de grado, Licenciatura en Ciencias Biológicas]. Universidad Austral de Chile.

Sun YuanXia, S. Y., Li Yin, L. Y., Song Hui, S. H., y Zhu Yang, Z. Y. (2011). Microbial fermentation for food preservation. In *Natural antimicrobials in food safety and quality* (pp. 77-94). Wallingford UK: CABI.

Talero, M. C. (2019). *Utilización de aceites esenciales en combinación con ácido láctico para extender la vida útil de carnes bovinas*. [Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata].

Taroco, R., Seija, V., y Vignoli, R. (2006). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. *Temas de Bacteriología y Virología Médica, Oficina del libro FEFMUR, Uruguay*, 36(1), 665-668

Ubaque, C. A. (2020). *Inclusión de aceite esencial de orégano y nisina encapsulados en biorecubrimiento comestible a partir de quitosano como alternativa de conservación en carne de hamburguesa de res*. [Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Colombia]. Repositorio institucional Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/77852>.

Vázquez, D. E. (2021). *Evaluación de Extractos etanólicos en polvo de pipicha (Porophyllum tagetoides) fresca como conservadores del queso artesanal de cabra*. [Tesis de Grado, Tecnológico Nacional de México]Repositorio Institucional del Tecnológico Nacional de México. <https://rinacional.tecnm.mx/handle/TecNM/3540>.

Viñuela, E. L. (2017). *Características generales de los aditivos alimentarios evaluación de su ingesta*. FAO. http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/prior/comagric/codex/pdf/aditivos.pdf

Vivanco, D., Ardiles, P., Castillo, D., & Puente, L. (2021). Tecnología emergente: Campo de pulsos eléctricos (PEF) para el tratamiento de alimentos y su efecto en el contenido de antioxidantes. *Revista chilena de nutrición*, 48(4), 609-619.

Wetlab. (Sin fecha). Antibiotic resistance test. *Wetlab*.
<http://download.systemsbioogy.nl/~jasperk/koen/Practical/WetLab/Week4/Monday/AntibioticResistanceTest/>

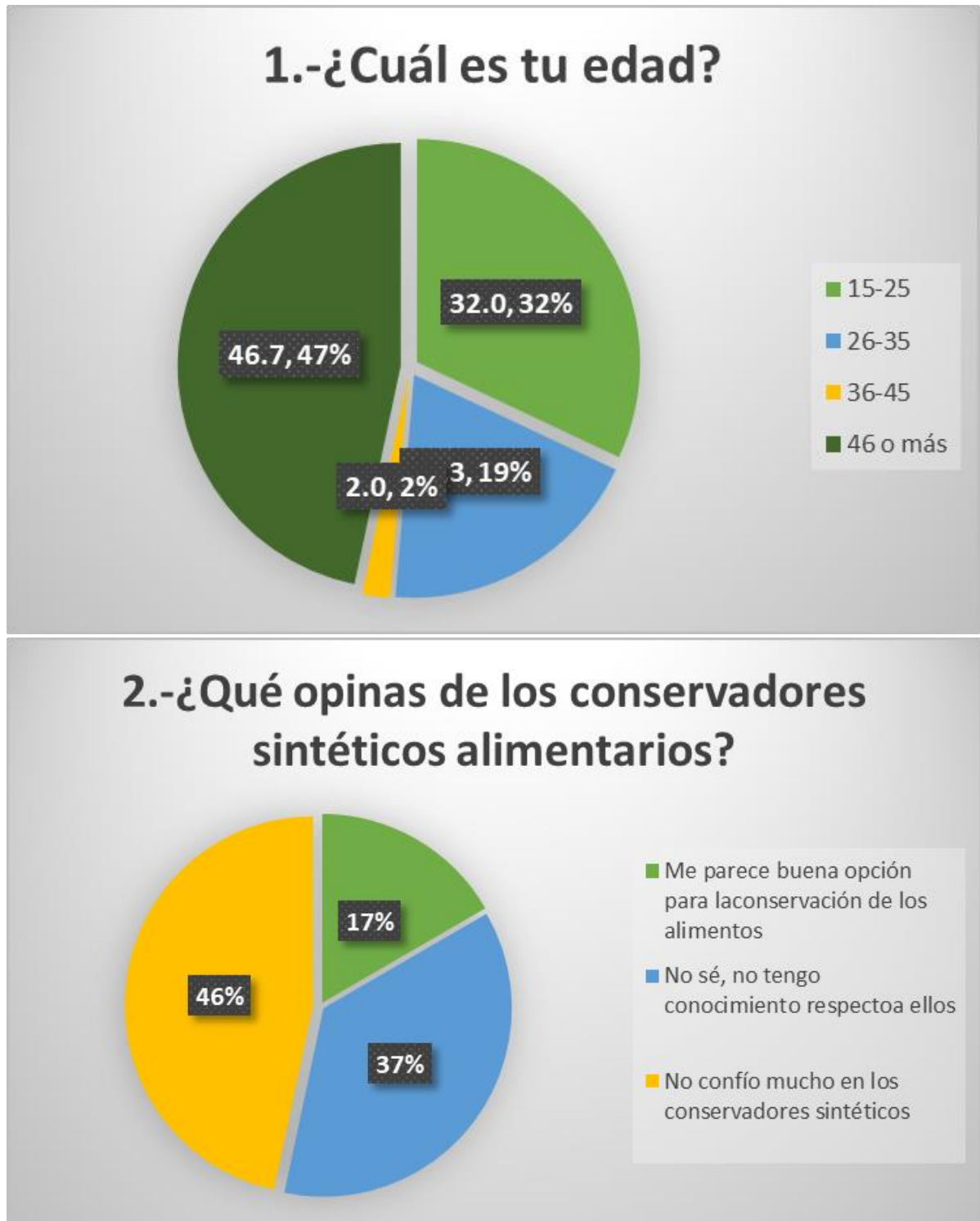
Winn, W. C., Allen, S. D., y Janda, W. M. (2008). *Koneman diagnóstico microbiológico: texto y atlas en color*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.

Yazgan, H., Ozogul, Y., y Kuley, E. (2019). Antimicrobial influence of nanoemulsified lemon essential oil and pure lemon essential oil on food-borne pathogens and fish spoilage bacteria. *International journal of food microbiology*, 306, 108266.

13. ANEXOS

ANEXO 1.

Resultados de la encuesta realizada a 150 residentes de la Republica Mexicana



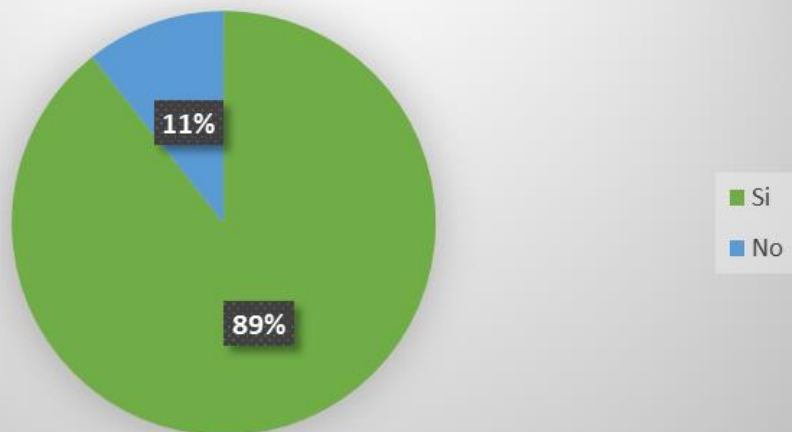
3.-¿Haz escuchado o investigado algo respecto a los conservadores naturales?



4.-Si te dieran a elegir entre conservadores naturales o sintéticos, ¿Cuál prefieres? Si te dieran a elegir entre conservadores naturales o sintéticos, ¿Cuál prefieres?



5.-¿Has escuchado hablar del término "Clean Label"?



ANEXO 2.

Tabla de investigación de artículos científicos

No.	TITULO	AUTOR(ES)	FECHA DE PUBLICACIÓN	REVISTA/UNIVERSIDAD
1	Efecto antimicrobiano de aceites esenciales de orégano (<i>Origanum vulgare</i>) y tomillo (<i>Thymus vulgare</i>) individuales y en combinación contra <i>Salmonella Typhimurium</i>	Araujo, C. F.	2019	Escuela Agrícola Panamericana
2	Utilización de aceites esenciales en combinación con ácido láctico para extender la vida útil de carnes bovinas	Talero, M. C.	2019	Universidad Nacional de La Plata
3	Evaluación de mezclas a partir de la endolisina PlyP100, nisina, arginato laurico y 8-polisina con efecto antimicrobiano sobre <i>Listeria monocytogenes</i> en queso panela	Martinez, A. R.	2019	Universidad Autónoma de Querétaro
4	Lemongrass (<i>Cymbopogon citratus</i>) essential oil: extraction, composition, bioactivity and uses for food preservation-a review	Majewska, E., Kozłowska, M., Gruszczynska-Sekowska, E., Kowalska, D., y Tarnowska, K.	2019	Polish Journal of Food and Nutrition Sciences
5	Composition and antibacterial effect on food borne pathogens of <i>Hibiscus sarrattensis</i> L. calyces essential oil	Akarca, G.	2019	Industrial Crops and Products
6	Garlic essential oil nanophytosomes as a natural food preservative: Its application in yogurt as food model	Nazari, M., Ghanbarzadeh, B., Kafil, H. S., Zeinali, M., y Hamishehkar, H.	2019	Colloid and interface science communications
7	Multifunctional alkyl ferulate esters as potential food additives: Antibacterial activity and mode of action against <i>Listeria monocytogenes</i> and its application on American sturgeon caviar preservation	Shi, Y. G., Bian, L. Q., Zhu, Y. J., Zhang, R. R., Shao, S. Y., Wu, Y., ... y Sun, H.	2019	Food Control
8	Inhibition of <i>Listeria monocytogenes</i> by <i>Melaleuca alternifolia</i> (tea tree) essential oil in ground beef	de Sá Silva, C., de Figueiredo, H. M., Stamford, T. L. M., y da Silva, L. H. M.	2019	International Journal of Food Microbiology
9	Antimicrobial influence of nanoemulsified lemon essential oil and pure lemon essential oil on food-borne pathogens and	Yazgan, H., Ozogul, Y., y Kuley, E.	2019	International journal of food microbiology

	fish spoilage bacteria			
10	Elaboración y caracterización de péptidos antimicrobianos encapsulados en soportes biopoliméricos, con potencial aplicación biotecnológica	Islas, J.	2019	Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
11	Caracterización para el desarrollo de un inhibidor de crecimiento bacteriano a partir del ajo (<i>Allium sativum</i>) para superficies de trabajo en la cocina	Cacao, J. V., y Mora, C. A.	2019	Universidad de Guayaquil
12	EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL ARANDANO AZUL (<i>Vaccinium corymbosum</i>) COMO INHIBIDOR DE LA <i>Escherichia coli</i> EN CONDICIONES In vitro	Lopez, R.	2020	Universidad Agraria Del Ecuador
13	Caracterización biológica de aceites esenciales de toronja y limón y sus fracciones concentradas	Placencia, S., Castillo, S., Torres Álvarez, C., Treviño, M., Gallardo, C., y Báez, J. G.	2020	Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos
14	Evaluación del efecto inhibitorio de mezclas binarias de aceites esenciales en fase de vapor contra <i>Salmonella</i> Serovar Montevideo en condiciones <i>in vitro</i>	Ordoñez, A.	2020	Benémerita Universidad Autónoma de Puebla
15	Evaluación de la capacidad inhibitoria de mezcla de aceites esenciales de albahaca (<i>Ocimum basilicum</i>) y orégano (<i>Origanum vulgare</i>) en <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Salmonella typhimurium</i> .	Carrillo, E. B.	2020	Universidad de Guayaquil
16	Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Citrus sinensis peel extract and application to strawberry preservation: A comparison study.	Gao, Y., Xu, D., Ren, D., Zeng, K., y Wu, X.	2020	Lwt
17	Bacteriocin-capped silver nanoparticles for enhanced antimicrobial efficacy against food pathogens.	Sidhu, P. K., y Nehra, K.	2020	IET nanobiotechnology

18	<i>Eucalyptus globulus</i> essential oil as a natural food preservative: Antioxidant, antibacterial and antifungal properties <i>in vitro</i> and in a real food matrix (orangina fruit juice).	Boukhatem, M. N., Boumaiza, A., Nada, H. G., Rajabi, M., y Mousa, S. A.	2020	Applied Sciences
19	Antimicrobial effect of different herbal plant extracts against different microbial population	Hemeg, H. A., Moussa, I. M., Ibrahim, S., Dawoud, T. M., Alhaji, J. H., Mubarak, A. S., ... y Marouf, S. A.	2020	Saudi Journal of Biological Sciences
20	In vitro antibacterial activity of <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. phenolic extract and its in situ application on shelf-life of beef meat	Márquez, A. S., Nevárez, S., Lerma, J. C., Hernández, L. R., Nevárez, G. V., Gutiérrez, N., ... y Salas, E	2020	Foods
21	Inclusión de aceite esencial de orégano y nisina encapsulados en biorecubrimiento comestible a partir de quitosano como alternativa de conservación en carne de hamburguesa de res	Ubaque, C. A	2020	Universidad Nacional de Colombia
22	Estudio de la actividad antimicrobiana de diferentes compuestos de aceites esenciales frente <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	Martínez, L.	2021	Universidad Politecnica de Valencia
23	Nanostructured Pimpinella anisum essential oil as novel green food preservative against fungal infestation, aflatoxin B1 contamination and deterioration of nutritional qualities	Das, S., Singh, V. K., Dwivedy, A. K., Chaudhari, A. K., y Dubey, N. K	2021	Food Chemistry
24	Essential oils and their application in food safety.	Maurya, A., Prasad, J., Das, S., y Dwivedy, A. K.	2021	Frontiers in Sustainable Food Systems
25	Evaluación de Extractos etanólicos en polvo de pipicha (<i>Porophyllum tagetoides</i>) fresca como conservadores del queso artesanal de cabra.	Vázquez Aguilar, D. E.	2021	Tecnológico Nacional de México
26	Actividad antibacteriana de aceites esenciales de <i>Minthostachys mollis</i> Griseb." Muña" y <i>Piper carpunya</i> Ruíz y Pav." Pinku"	Gonzales, K., Salazar, M. E., y Fuertes, C. M.	2022	Ciencia e Investigació

27	Estudio bibliográfico de la composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	Castillo, K. S., y Quimi, A. P	2022	Universidad de Guayaquil
28	Actividad bactericida del extracto etánolico de <i>Aloysia citridora</i> "cedrón" en bacterias alteradoras de carne fresca.	García, F. T., y Trauco, M. Á.	2022	Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería
29	Tratamientos para minimizar las pérdidas por <i>Penicillium expansum</i> en poscosecha de manzanas.	González, M. C.	2022	Universidad de la Republica
30	Efecto del aceite esencial de orégano y sus fracciones concentradas en el crecimiento de <i>Aspergillus brasiliensis</i> (niger)	Cazares-Rodríguez, A. G., Rodríguez-Rodríguez, J., Sánchez-García, E., De Lara-Novella, J., García-Alanís, K., Leos-Rivas, C., y Castillo-Hernández, S.	2023	Investigación y Desarrollo en Ciencia y tecnología de alimentos