

1 300627

2ej



UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA
INCORPORADA A LA U.N.A.M.

"ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS
CONSERVADORES ANTIMICROBIANOS
QUIMICOS MAS UTILIZADOS EN PASTE-
LES TIPO PANQUE Y LOS COMBINADOS
QUE SE OBTIENEN DE ELLOS"

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

ROSA MARIA ACEVEDO HURTADO

DIRECTOR DE TESIS: Q.F.B. MARIANO LLERA FANJUL

MEXICO, D. F.

1990

FALTA DE ORIGEN
TESIS CON



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 está 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.

INDICE

pág.

I.- OBJETIVO.	1
II.- ANTECEDENTES.	2
2.1 Justificación del tema.	2
2.2 Orígenes e historia de los conservadores en estudio.	3
a) Acido Benzóico y sus sales.	3
b) Acido Propiónico y sus sales.	3
c) Acido Sórico y sus sales.	4
III.- INTRODUCCIÓN.	5
3.1 Conservadores antimicrobianos químicos.	5
3.2 Combinados de sustancias conservadoras.	15
3.3 Generalidades de los conservadores en estudio.	18
a) Acido Benzóico y sus sales	18
b) Acido Propiónico y sus sales	23
c) Acido Sórico y sus sales	27
IV.- TIPOS DE DESCOMPOSICION MICROBIANA EN EL PAN.	32
4.1 Mohos.	32
4.2 Bacterias.	41
V.- METODOLOGIA.	50
5.1 Selección de fórmula.	50
5.2 Material y equipo.	52
5.3 Procedimiento.	52
VI.- RESULTADOS.	56
6.1 Vida de anaquel	56
-En condiciones normales	56
-En cámara húmeda	67
6.2 Pruebas Microbiológicas	69
6.3 Pruebas Sensoriales	69
6.4 Pruebas Bromatológicas	70
VII.- CONCLUSIONES.	71

	pág.
VIII- DISCUSION DE RESULTADOS.	72
IX- BIBLIOGRAFIA	73

INDICE DE TABLAS

TABLA 1. Niveles de ácidos no disociados en varios productos de panificación.	8
TABLA 2. Niveles de Propionatos sugeridos en panificación.	28
TABLA 3. Niveles de Sorbatos sugeridos en panificación.	31
TABLA 4. Clasificación de coccos.	43
TABLA 5. Clasificación de bacilos.	43
TABLA 6. Grupos de bacterias importantes en alimentos.	44
TABLA 7. Niveles aplicados de conservador.	51
TABLA 8. Vida de Anaqueil de Conservadores Puros.	56
TABLA 9. Vida de Anaqueil para Combinados.	59
TABLA 10. Vida de Anaqueil de Combinados con Dosis Reducidas al 50%	61
TABLA 11. Diferentes Proporciones del Combinado Acido Sórbito-Benzoato de Sodio	63
TABLA 12. Disminución de Dosis del Combinado Acido Sórbito 100%-Benzoato de Sodio 50%.	65
TABLA 13. Vida de Anaqueil en Cámara Húmeda.	67

INDICE DE GRAFICAS

GRAFICA #1 y #2. Vida de Anaqueil de Conservadores Puros. Benzoato de Sodio y Sorbato de Potasio.	57
GRAFICA #3 y #4. Vida de Anaqueil de Conservadores Puros. Propionato de Sodio y Acido Sórbito.	58
GRAFICA #5. Vida de Anaqueil para Combinados.	60
GRAFICA #6. Vida de anaqueil para Combinados con Dosis Reducidas al 50%.	62
GRAFICA #7. Diferentes Proporciones del Combinado Acido Sórbito-Benzoato de Sodio.	64
GRAFICA #8. Disminución de Dosis del Combinado Acido Sórbito 100%-Benzoato de Sodio 50%.	66
GRAFICA #9. Vida de Anaqueil en Cámara Húmeda.	68

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS CONSERVADORES
ANTIMICROBIANOS QUÍMICOS MÁS UTILIZADOS
EN PASTELES TIPO PANQUE Y LOS COMBINADOS
QUE SE OBTIENEN DE ELLOS.**

I.- OBJETIVO:

Se llevarán a cabo ensayos con la aplicación de Propionato de Sodio, Acido Sórbico, Sorbato de Potasio, Benzoato de Sodio y los combinados que se obtienen de ellos, en la elaboración de pasteles tipo panqué, en condiciones normales y en cámara húmeda, manteniendo constantes las variables de temperatura de horneado, tiempo de horneado e ingredientes. Con esto se intenta aprovechar las propiedades sinérgicas que presentaran y establecer los niveles mínimos de dosificación adecuada para una vida comercial de 10 días, y niveles que incrementarán la vida de anaquel requerida para diferentes condiciones.

II. ANTECEDENTES:

2.1 Justificación del tema:

A continuación del pan, la elaboración de pasteles representa el más antiguo ejemplo del arte de la panificación, y es un hecho el de que ocupa un buen lugar en cuanto a su gran demanda.

La contaminación de los productos de panificación y pastelería es causada por diversos mohos y bacterias, entre las cuales la más incidente es el Bacillus mesentericus, que causa la infección llamada "vope". Estos microorganismos han provocado en tiempos pasados pérdidas anuales considerables. Debe entenderse claramente que los conservadores no pueden tomar el lugar de la limpieza en el proceso de elaboración del alimento. El uso de conservadores no mejorará la calidad de material inferior. Una vez dañado el producto, los conservadores son incapaces de hacer un producto saludable de uno no saludable. A pesar de que los métodos modernos de control han reducido grandemente la incidencia de las infecciones en el pan, el problema queda aún sin resolver, especialmente cuando se combinan las altas temperaturas de verano y altas humedades, que crean condiciones favorables para el crecimiento de estos microorganismos (36). Aunado ésto al grave problema de distribución y transporte, hacen que se tenga la necesidad de elaborar productos alimenticios con una vida de anaquel más prolongada.

Esta situación ha traído como consecuencia la propagación de nuevos y diferentes conservadores químicos, y exige un estudio profundo sobre sus aplicaciones, limitantes y aprovechamiento de las características sinérgicas que puedan presentar sus combinados, para que se reduzcan a un mínimo las pérdidas de cualquier índole de alimentos.

2.2 Orígenes e historia de los conservadores en estudio:

a) Ácido Benzoico y sus sales:

Se encuentra en la naturaleza en varias frutas de la familia de la cereza, en la ciruela pasa, canela, arándano y ajos maduros (29,30).

La acción conservadora del ácido benzoico fue descrita por primera vez por H. Fleck, en el año 1875, cuando intentaba encontrar un sucedáneo del ya conocido ácido salicílico. Relacionó la acción de los dos ácidos con la del fenol.

Al contrario del ácido salicílico, el Ácido benzoico no podía ser preparado sintéticamente en gran cantidad, por lo que hasta fines del siglo no se le introdujo en la conservación de alimentos. Desde entonces es una de las sustancias más empleadas para este fin en todos los países del mundo, sobre todo a causa de su precio. En 1908 se admitió el uso del ácido benzoico en la alimentación en U.S.A. Recientemente existe la tendencia a sustituirlo por otras sustancias más ventajosas desde el punto de vista toxicológico. Se prefiere su forma de sal de sodio por la baja solubilidad acuosa del ácido (1).

b) Ácido propiónico y sus sales:

El ácido propiónico aparece como producto secundario en la obtención del ácido acético por oxidación de hidratos de carbono, y lo producen también las bacterias propiónicas.

Se sabe desde hace tiempo que el ácido propiónico y sus sales ejercen acción antimicrobiana. Una de las primeras reportes proviene de Kiesel, en 1913 (6).

Su empleo en la técnica de conservación de productos de panificación data del año 1938 y fue introducido por C. Hoffman, G. Dalby y T.R. Schweitzer. Ya desde 1908 se conocía la acción de los ácidos orgánicos contra la filamentosidad del pan. Desde el final de los años 30 se emplearon en U.S.A. propionatos en gran cantidad para la conservación del pan, y en forma más restringida, para la conservación de quesos. En otros países se ha usado con gran éxito el propionato en la conservación de productos de panificación, sobre todo para pan blanco, pobre en ácidos.

El ácido propiónico como tal se emplea poco; se usan solamente sus sales sódicas y cálcicas (1).

c) Ácido Sórico y sus sales:

La palabra "sorbato" se deriva del nombre científico del árbol o mostajo europeo que es "*Sorbus aucuparia*". De las semillas de estos árboles se extrajo por primera vez el ácido sórbico en 1858, por A. W. Hoffmann, químico alemán que combinó el aceite del mostajo verde con un Alcali fuerte para aislar dicho ácido. Entre 1870 y 1890 fue identificada por primera vez su estructura. Se sintetizó en el laboratorio en 1900, y en 1908 fue descubierta su acción antimicrobiana por E. Müller en Alemania y solo pocos meses después por C. M. Gooding en U.S.A. independientemente uno del otro.

Hacia la mitad de la década de los 50, empieza su producción industrial, en Alemania. Desde entonces su empleo como conservador de alimentos ha ido en aumento en todo el mundo y sus preferencias son mayores cada día debido a su inocuidad fisiológica y a su indiferencia sensorial (27,35).

El ácido sórbico se emplea puro o como sal sódica, potásica o cálcica en diversas formas de preparación (polvo, granulado, soluciones, suspensiones). Sus ésteres, con alcoholes alifáticos de cadena corta, que también tienen acción conservadora, no se emplean debido a su olor característico (1).

III- INTRODUCCION:

3.1 Conservadores antimicrobianos químicos:

3.1.1 Generalidades:

Los conservadores antimicrobianos, llamados también inhibidores, pueden ser químicos o naturales. Un conservador químico se define como: "cualquier sustancia química que añadida a un alimento, contribuye a prevenir o retardar su alteración posterior; pero no incluye sal común, azúcar, vinagre, especias o sustancias extraídas de las mismas, o cualquier sustancia introducida al alimento por el humo de madera" (5,36) .

La inhibición del crecimiento y actividad microbianos es uno de los fines principales perseguidos por el uso de los conservadores, por lo que será el objetivo de nuestro estudio.

Las sustancias reconocidas generalmente como adecuadas para ser añadidas a los alimentos son: ácido propiónico y propionatos de sodio y calcio; ácido caprílico; ácido sórbico y sorbatos de potasio, calcio y sodio; ácido benzoico, benzoatos y otros derivados del ácido sórbico; anhídrido sulfuroso y sulfitos, bisulfitos y metabisulfitos de sodio y potasio, y nitrito de sodio.

Los conservadores naturales serán aquellos excluidos de la definición anterior como los ácidos naturales (láctico, málico, cítrico) y sus sales, vinagre (ácido acético), cloruro de sodio, azúcar, especias y sus aceites, humo de leña, dióxido de carbono y nitrógeno.

Los productos originados por las bacterias durante su crecimiento con el tiempo retardan o paralizan su desarrollo, pudiendo ser inhibidores para la multiplicación de otros microorganismos (36). Casi todos los conservadores producidos en los alimentos por acción microbiana son ácidos (sobre todo lácticos) y alcohol (37). Los alimentos naturales pueden contener elementos que inhiban el crecimiento de ciertas bacterias; por ejemplo el ácido benzoico de los arándanos.

La adición de sustancias inhibidoras durante la elaboración de alimentos puede controlar el crecimiento de casi todos los microorganismos; al menos de los perjudiciales. Tal es el caso de los propionatos adicionados al pan para inhibir a los hongos y algunas bacterias.

Ciertos agentes químicos ejercen un efecto inhibitorio o letal sobre las bacterias. Se conocen como bacteriostáticos o antiatóxicos, y bactericidas o desinfectantes.

Un bacteriostático es una sustancia que pretende retardar el crecimiento bacteriano sin destruir necesariamente al organismo. Un bactericida es un agente que mata a las bacterias, pero no necesariamente a las esporas. Similarmente un fungicida mata a los hongos y un fungistático es un compuesto que evita su crecimiento. Un agente químico puede tener un efecto bacteriostático a concentraciones diluidas y volverse bactericida a concentraciones más elevadas. Ejemplos de éste son: formaldehído, alcohol, fenol, ácidos fuertes e hidróxidos fuertes.

Los conservadores utilizados en la producción del pan tienen generalmente un efecto estático o efecto inhibitorio sobre el crecimiento, por lo que son fungistáticos o bacteriostáticos (29).

Las características que deben cumplir los conservadores son:

- a) Prolongar la vida del producto.
- b) No debe ser tóxico.
- c) No debe impartir sabor, color, olor, textura extraña cuando se usa en los niveles sugeridos.
- d) Debe presentar propiedades antimicrobianas en el rango de pH del alimento en que se usa.
- e) Presentar amplio espectro microbiano.
- f) Deben ser efectivos a baja concentración, sin afectar notablemente el pH del producto.
- g) No debe de ser inactivado por el alimento o alguno de los componentes ni por los productos del metabolismo microbiano.
- h) Estar disponible de preferencia en forma sólida y ser soluble en agua.
- i) No debe ser corrosivo y debe ser estable durante el almacenamiento.
- j) Si ha de someterse a calor debe ser termestable.
- k) Debe de ser relativamente económico (5).

Además de los productos químicos adicionados a los alimentos, o de los que los recubren para su conservación, muchos de los compuestos de esta clase empleados en la industria alimentaria se utilizan para impregnar las envolturas de los alimentos para destruir o eliminar los microorganismos de la superficie, o como gases o vapores aplicados directamente a la atmósfera que rodea al alimento (37).

La efectividad de los ácidos grasos como inhibidores varía de acuerdo a:

- a) La longitud de la cadena (normalmente una cadena ramificada del ácido es menos efectiva que una cadena lineal del mismo ácido).
- b) Los ácidos insaturados tienden a ser más efectivos que los saturados.
- c) La posición y el número de los dobles enlaces es más importante en los ácidos grasos de cadena larga (C_{12}) que en los de cadena muy corta.
- d) La forma cis es más activa que la forma trans.
- e) Los organismos Gram-negativos son afectados por ácidos grasos de cadena muy corta.
- f) La concentración del ácido.
- g) Número, clase, edad e historia previa del microorganismo.
- h) Temperatura.
- i) Tiempo.
- j) Características físicas y químicas del sustrato en que se encuentra el microorganismo como: contenido de agua, pH, clase y proporción de sustancias en solución, etc. (9).

Entre menor sea el pH del medio que contiene al ácido, mayor es la acción desinfectante e inhibidora. El efecto de diferentes ácidos al mismo nivel de pH varía considerablemente.

Por regla general, los ácidos grasos son mucho más tóxicos para los mohos que los ácidos minerales y los ácidos orgánicos, tales como el láctico, tartárico, cítrico y málico. Como ejemplo de ácidos grasos tenemos el acético, fórmico, butírico, propiónico, benzóico, etc. Los conservadores en estudio son todos ácidos grasos.

Se ha descubierto que la forma tóxica de los ácidos grasos es el ácido no disociado y no el anión del ácido disociado. La cantidad de ácido no disociado en un sistema acuoso depende del pH y de la constante de disociación del ácido. Los valores superiores de pH promueven la disociación del ácido, y por lo tanto, reducen la acción fungistática.

En la tabla no. 1 se presenta el nivel de ácido no disociado en varios productos de panificación.

TABLA 1. NIVELES DE ACIDOS NO DISOCIADOS EN VARIOS PRODUCTOS DE PANIFICACION.

PRODUCTO	pH APROXIMADO	% DE ACIDO NO DISOCIADO		
		ACIDO SORBICO	ACIDO BENZICO	ACIDO PROPIONICO
RELLENO DE FRUTA DE PIE	4	88.0	60.0	88.0
PAN	5	37.0	13.0	42.0
PASTEL (PAN BLANCO)	7	0.6	0.2	0.7

NOTA: Como se puede observar, a mayor pH, es mayor el % de ácido disociado, y por tanto menor la capacidad conservadora del inhibidor (38).

3.1.2 Mecanismos de acción:

Se sabe que los ácidos empleados en los alimentos retardan el crecimiento de microorganismos, sin embargo, el efecto de los conservadores ácidos no puede atribuirse a su acidez, ya que se trata generalmente de ácidos débiles como el benzoico.

Los ácidos relativamente fuertes que pueden considerarse como conservadores son: tartárico, cítrico y láctico, que actúan principalmente debido a la disminución del pH de los alimentos.

Otros ácidos más fuertes como el sulfuroso, el salicílico y el fórmico, tienen igual efecto, sin embargo, son bastante tóxicos y no son permitidos en los alimentos.

Los ácidos más débiles como el benzoico, el acético y el propiónico, tienen un efecto que depende de la naturaleza antimicrobiana de la molécula no disociada (aumentan la concentración de iones hidronio) (5).

Las sustancias con actividad antimicrobiana solo pueden desplegarla cuando a la concentración adecuada se ponen en contacto íntimo con la célula microbiana. La muerte de los microorganismos se basa en una serie de injertos aislados altamente selectivos. Junto a mecanismos físicos y fisicoquímicos, intervienen reacciones puramente bioquímicas, sobre todo de inhibición de enzimas. A menudo se suman diversos factores individuales, otras veces se trata del bloqueo de un solo paso de una reacción celular (1). En realidad, a pesar de que los conservadores químicos llevan muchos años de uso, su forma de acción aún no es muy clara (6,36).

Los mecanismos de acción propuestos son los siguientes:

- a) Interferencia de la membrana celular.
- b) Interferencia de los mecanismos genéticos celulares.
- c) Interferencia con las actividades enzimáticas intracelulares (1).

a) Interferencia de la membrana celular:

Para la viabilidad de la célula microbiana, especialmente la de las bacterias, tiene una importancia decisiva la integridad de la pared celular y de la membrana semipermeable subyacente. La pared celular es una importante estructura de protección, pero representa al mismo tiempo una superficie de ataque vulnerable (1).

Las paredes celulares son polímeros complejos de micopéptidos (glicopéptidos), lipopolisacáridos, lipoproteínas y proteínas. Un conservador antimicrobiano puede afectar la síntesis de uno de los componentes simples de estos grupos inhibiendo la polimerización y creando un sistema célula-pared imperfecto que falla en la satisfacción de los requerimientos de la célula.

Para que un conservador antimicrobiano sea efectivo no es necesario que penetre en la célula. Una reacción en la pared celular puede ser suficiente para alterar su permeabilidad, lo cual puede permitir el paso de nutrientes a la célula, y viceversa, por lo que puede causar un escurecimiento de constituyentes celulares. Este efecto puede ser causado por antibióticos polipéptidos, tales como tyrocidin y polymyxin, y también por agentes surfactantes (o activos de superficie) como compuestos de amonio cuaternario, o ácidos grasos (8).

Debido a que los ácidos grasos no disueltos son muy solubles en solventes grasos y poco solubles en agua, son adsorbidos en la superficie de las paredes celulares de los microorganismos que están formados parcialmente por material graso. Así, los ácidos grasos pueden bloquear las funciones metabólicas (de crecimiento y de mantenimiento) del microorganismo y, por tanto, retardar su crecimiento. El efecto inhibitorio sobre el crecimiento, se debe entonces a una alteración en la permeabilidad de las paredes celulares, que previene el paso de nutrientes o la unión de los componentes celulares para la reproducción (36). Se espera que esta interferencia ejerza una acción inhibitoria preferentemente a la mortal.

b) Interferencia de los mecanismos genéticos celulares:

La interferencia con los mecanismos genéticos de las células crea actividad química en la célula, pero otra vez bajo este concepto general, el sitio activo problemático es muy difícil de asegurar. La estreptomocina, el cloranfenicol y otros antibióticos atacan al ribosoma RNA en un sitio indefinido, causando acumulación de RNA por inhibición de la síntesis de proteínas. El importante grupo de las tetraciclinas es notoriamente valioso por la habilidad metal-quelación poco usual. Mientras que el complejo metal-quelación puede tener influencia en varios sitios sensitivos, la inhibición de la síntesis de proteínas parece ser más importante y esto ocurre en un paso más adelante de la síntesis que involucra al ribosoma.

c) Interferencia de las actividades enzimáticas:

La mayor importancia la tiene el bloqueo por los conservadores de determinadas reacciones enzimáticas o de la síntesis de enzimas en la célula microbiana, y éstos pueden ir desde enzimas asociadas con la construcción de la pared celular a aquellas que participan en las reacciones múltiples de RNA y la doble estructura helicoidal de DNA,

pueden inhibirse enzimas del metabolismo basal de la célula, o bien, la síntesis de componentes esenciales como las proteínas. Inhibición o muerte es el resultado de esta interferencia (6).

Hay que tener en cuenta que los conservadores pueden inhibir las mismas reacciones en el organismo humano, lo que, sin embargo, no ha de llevarnos a concluir que los conservadores que actúan inhibiendo enzimas han de ser forzosamente perjudiciales para el hombre. Depende primordialmente de la concentración de inhibición que siempre se alcanza mucho antes en la célula microbiana que en las del cuerpo humano. Muchos conservadores, por ejemplo el ácido sórbico, son rápidamente destruidos por el organismo humano, lo que hace que su concentración deje de ser apreciable. Hay que tener más cuidado con los efectos de los conservadores que sí se degradan ni se eliminan, sino que se acumulan en el organismo, como los fluoruros o el ácido bórico (7).

3.1.3 Degradación de los conservadores:

En general, los conservadores de alimentos son sustancias químicas estables, por lo que podemos contar con que no se destruirán durante el tiempo normal de almacenamiento. Entre los conservadores inorgánicos constituyen excepciones los nitritos, sulfitos, agua oxigenada y ozono, y entre los orgánicos, el pirocarbonato de sodio y los antibióticos.

Para alguna de estas sustancias es indispensable la destrucción, que forma parte de su actividad, por ejemplo: la acción antimicrobiana del agua oxigenada se debe al oxígeno liberado. En otros es deseable la destrucción debido a que proporciona un producto final libre de conservador, como sucede con el pirocarbonato de sodio.

En muchos conservadores junto a la degradación química puede tener lugar una degradación por los microorganismos. Esto ocurre sobre todo con los compuestos orgánicos, que algunos microorganismos pueden utilizar como fuente de carbono. Esta degradación puede tener lugar cuando el conservador atacado no es activo contra el microorganismo en cuestión. También es posible cuando un alimento ya está muy contaminado con gérmenes. A ello se debe el hecho de que cuando ha empezado ya el deterioro microbiano no se pueda conservar el alimento ni devolverle su apariencia fresca aunque se añadan conservadores. El consumidor de alimentos que han sido conservados con sustancias atacables por microorganismos tiene la garantía de que se ha perdido para su preparación de materias primas absolutamente libres de gérmenes (8).

3.1.4 Interacción Alimento-Conservador:

Durante esta interacción pueden producirse reacciones químicas con el alimento, como el caso del SO_2 que controla el oscurecimiento de los alimentos durante el secado. Durante esta interacción de alimento-conservador se pueden presentar:

- Inactivación de las enzimas
- Desnaturalización de las proteínas
- Destrucción de las vitaminas

Por ásto, el fin de agregar un conservador al alimento, es el de desarticular al metabolismo de los microorganismos, sin embargo, es difícil encontrar conservadores que actúen solamente contra ellos (5).

Se debe hacer hincapié en que el uso de los conservadores no debe considerarse como una acción que sustituya al manejo sanitario e higiénico de los alimentos.

La limpieza inadecuada del equipo o el crecimiento inesperado de microorganismos sobre las materias primas puede anular la eficiencia de un conservador que es útil en condiciones normales (5).

Es muy importante tomar en cuenta las especificaciones particulares del conservador a emplear; el proveedor debe anexar a la muestra del producto los niveles sugeridos de uso, rango de pH favorables, el momento del proceso en el que se debe de añadir, las condiciones de almacenamiento, etc., y una copia del certificado del análisis correspondiente (aparencia, identificación, pureza, acidéz o alcalinidad, arsénico, metales pesados, pérdida en el secado, etc.).

En el desarrollo de nuevos productos el tecnólogo debe recordar que el valor real de un conservador se determina sólo después de que ha sido probado bajo las condiciones reales de su fabricación y distribución.

3.1.5 Toxicología:

La premisa más importante para el empleo de una sustancia como conservador de alimentos, es que no ofrezca peligro para la salud. Los conservadores solamente se permiten y se adicionan después de ser sometidos a las pruebas correspondientes y de acuerdo con nuestros conocimientos actuales no producen ningún tipo de lesión o no se espera que puedan producirla.

Por el momento no existen normas internacionales obligatorias sobre la investigación toxicológica de los conservadores de alimentos. Las normas más admitidas son las fijadas por el comité de expertos de la WHO (World Health Organization) y por la FAO (Food & Agriculture Organization).

De los muchos criterios para juzgar la inocuidad de una sustancia para añadirla a los alimentos se tienen en consideración los siguientes puntos:

a) Toxicidad aguda:

Se expresa como LD₅₀ (dosis letal). Cantidad mínima de una sustancia que produce la muerte a la mitad de la población en experimentación. Las cantidades empleadas de conservador no alcanzan en mucho al valor del LD₅₀.

b) Toxicidad subcrónica:

Se determina por el llamado test de los 90 días; proporciona puntos de apoyo adicionales sobre la tolerancia a una sustancia en el campo de la alimentación. Su objetivo es observar si aparecen lesiones cuando se administran en concentraciones elevadas y cuáles son los órganos que primero se afectan.

c) Toxicidad crónica:

Se debe de observar su comportamiento en experiencias en alimentación a largo plazo. Las exigencias para el uso de éstos deben de ser superiores a las que se tienen para los medicamentos, ya que muchos se consumen por determinados grupo de personas durante largos períodos de tiempo. Se observará los efectos que ocasiona sobre las funciones orgánicas. Se busca encontrar una dosis que no produzca efectos patológicos. En primer lugar no deben de influir sobre el crecimiento.

d) Acción carcinogénica:

Una sustancia puede ser únicamente empleada como conservador cuando, ensayada largo tiempo con el alimento, no presenta ningún tipo de acción cancerígena. Hay que tener en cuenta la tasa de numeración espontánea de la especie animal en estudio, administrarla durante toda la vida del animal, por vía oral, y por lo menos en dos especies de animales distintas.

e) Acción mutagénica:

Capacidad de una sustancia de modificar directa o indirectamente material hereditario al inducir cambios en los genes o en los cromosomas. Las investigaciones pueden hacerse con microorganismos o huevos de aves, pero la prueba definitiva ha de hacerse sobre gónadas de mamíferos "in vivo".

f) Acción teratogénica:

Efecto de una sustancia sobre el embrión o el feto. Si causan esta acción son totalmente rechazadas.

g) Comportamiento bioquímico:

Es necesario saber en que medida el organismo incorpora la sustancia conservadora, cuales son los factores que influyen en su absorción, como se reparte en el organismo, si se metaboliza y cómo, o bien, si se excreta inalterada. Las pruebas pueden llevarse a cabo parcialmente en el hombre.

h) Consumo diario aceptable:

El comité de expertos de la OMS ha establecido la llamada ingestión diaria aceptable (ADI), que se obtiene multiplicando por 100 el valor obtenido de la concentración máxima de conservador que no presente ningún efecto toxicológico en los animales. La ADI se refiere a kilo de peso corporal, y da la cantidad de sustancia en mg que puede consumirse diariamente sin reparo durante toda la vida (1).

3.1.6 Conservadores de uso más común en panificación:

Además de los conservadores en estudio, que son los más utilizados en panificación existen otras opciones entre las cuales se encuentran:

a) Ácido acético: (Conservador natural):

Es usado en panes comerciales para retardar el crecimiento inicial de mohos, pero tienen poco efecto sobre el crecimiento final, sin embargo el ácido acético y el acetato de calcio son efectivos contra las bacterias que causan el "rope". El ácido acético es corrosivo y sus vapores pueden ser peligrosos.

b) Diacetato de sodio:

Es una molécula compleja constituida por una molécula de acetato de sodio y una de ácido acético. Su acción es similar a la de los propionatos. Es un inhibidor fuerte contra mohos y "rope". Presenta una actividad mucho mayor que el vinagre o ácido acético sales. Su adquisición es problemática debido a que no se produce en el país.

c) Parabenos:

Son ésteres alcalinos del ácido hidrobenczoico. Tienen un espectro microbiano similar al que tiene el ácido benzoico, pero con un rango de pH más amplio. Sus limitantes son la falta de estabilidad y el impartir sabor. No son tóxicos ni imitan la piel. No requieren cuidados especiales en su manejo.

3.2 Combinados de sustancias conservadoras:

Actualmente es frecuente combinar unas sustancias con otras con objeto de aumentar su actividad o de modificarla en algún sentido. De acuerdo con este modelo han surgido combinaciones puramente empíricas de sustancias conservadoras a las que se llama combinados. De su empleo en la técnica de los alimentos se esperan en general las siguientes ventajas:

- Ampliar el espectro de acción
- Intensificar la acción microbiana

3.2.1 Ampliación del espectro de acción:

Como puede observarse en los espectros de acción de las sustancias conservadoras, cualquiera de ellas no actúa más que sobre parte de los agentes que existen en un alimento. Se intenta superar esta limitación empleando simultáneamente varios conservadores con espectros de acción distintos. Teóricamente existe también la posibilidad de que un combinado presente un espectro de acción distinto de los espectros de cualquiera de las dos sustancias que lo integran. Cuando esto sucede, pueden estar comprendidos en este espectro microorganismos que no sean inhibidos por los componentes aislados o que lo sean solamente con concentraciones extremas (1).

3.2.2 Modificación de la acción antimicrobiana:

Existen tres posibilidades de modificar la actividad cuando se combinan dos o más sustancias conservadoras:

- a) Adición
- b) Sinergismo
- c) Antagonismo

a) Adición:

Significa que se suman las actividades de los componentes por separado.

b) Sinergismo:

Quiere decir que se necesita una concentración menor del combinado para inhibir a los microorganismos que con cada uno de los componentes por separado.

o) Antagonismo:

Es el efecto contrario, es decir, es necesario emplear mayor concentración de la mezcla que de los dos componentes aislados. La relación se representa gráficamente en los llamados diagramas isobólicos (ver figura 1).

En muchos casos la combinación de sustancias conservadoras tiene como resultado una auténtica elevación de la actividad antimicrobiana, lo que permite conseguir una disminución del contenido total en conservadores o aminorar acciones secundarias eventuales de tipo sensorial.

En contra de lo que en general pueda esperarse, sin embargo, no todos los combinados pueden considerarse más favorables que los componentes por separado. El comportamiento de muchos combinados es distinto según se trate de bacterias, mohos o levaduras. No se pueden hacer predicciones acerca de la influencia de un conservador sobre la de otro conservador que sean válidas para todo tipo de microorganismo.

De interés principalmente teórico es la intensificación o debilitación de la acción por sustancias que a las concentraciones empleadas carecen, o casi, de actividad antimicrobiana. El cloruro cálcico debilita ligeramente la acción del ácido sórbico, del ácido benzoico, y de otras sustancias conservadoras, mientras que los sales de metales pesados actúan más bien sinérgicamente. Los ácidos isobutírico, glucónico, ascórbico y algunas vitaminas del complejo B intensifican la acción.

Solamente presentan interés práctico los combinados que actúan sinérgicamente, permitiendo disminuir el contenido total de sustancias conservadoras. En general se prefieren los combinados con propiedades aditivas a los componentes por separado por razones comerciales.

Como un tipo de intensificación de la actividad puede considerarse también la combinación de una sustancia corriente, de acción prolongada, como es ácido sórbico, con una sustancia de acción inmediata pero poco duradera, como el peróxido de hidrógeno, la cual lleva a cabo la destrucción rápida de los microorganismos, y el ácido sórbico protege contra posteriores contaminaciones.

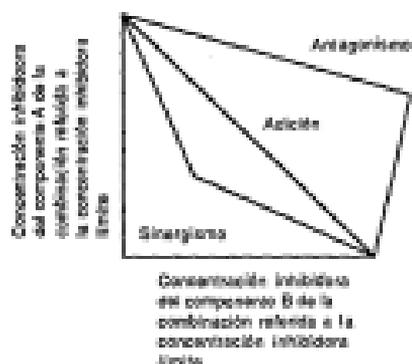
Es ventajosa la combinación de conservadores en sentido estricto con sustancias que dificultan la disociación, como ácidos, o que tienen efectos osmóticos y reducen la actividad, como la sal común o el azúcar. Tales sustancias tienen sin embargo un interés secundario como participantes de la combinación, ya que alteran profundamente los caracteres del alimento. Lo mismo ocurre con las grasas y los alcoholes, que existen en muchos alimentos, pero que no deben ser adicionados.

3.2.3 Toxicidad de combinados de sustancias conservadoras:

En la práctica es corriente el empleo de mezclas de distintos conservadores. Sería de suponer que su comportamiento toxicológico fuese diferente al de las sustancias por separado.

Esto no se cumple para la LD50, ni para la toxicidad subcrónica alimentando a los animales con un 2-20% de la LD50 durante 6 meses. En las investigaciones están incluidos (en parte como sales sódicas) el ácido hidroacético, el ácido sórbico, el ácido benzoico, los ésteres etílico, propílico y butílico del ácido p-hidroxibenzoico, el ácido salicílico, el ácido propiónico y la fenilfuramida. Únicamente la combinación del ácido benzoico con el sulfito se comporta en forma algo desfavorable (1).

Fig #1. Diagrama isobólico.



3.- Generalidades de los conservadores en estudio:

a) Ácido Benzoico y sus sales:

Los benzoatos se han empleado durante mucho tiempo en alimentos como inhibidores. Es la sal de sodio del ácido benzoico (benzoato de sodio) la que se usa debido a la poca solubilidad del ácido en agua. En los sistemas alimenticios la sal se transforma en el ácido libre, el cual es la forma activa.

El benzoato de sodio es relativamente ineficaz a pH próximo a la neutralidad; su efectividad se incrementa al aumentar la acidez (lo que indica que su forma activa es el ácido no disociado). El margen de pH óptimo de acción está entre 2.5 y 4.0.

Como el benzoato de sodio solamente es activo a pH's menores de 4.5, su uso en productos de panificación se limita a productos ácidos, como los rellenos de fruta, mermeladas, jaleas y geles que pueden descomponerse por la fermentación causada por algunas levaduras que toleran altas concentraciones de azúcar. Su fórmula molecular es la que sigue:



Benzoato de Sodio

El ácido Benzoico, $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$, con peso molecular de 121.11, se presenta en forma de escamas o agujas blancas, brillantes, monoclinicas, que funden a 122°C. Es inodoro o casi inodoro, de sabor dulzón, astringente. En 100 g de agua se disuelven a temperatura ambiente 0.34 g de ácido benzoico; en 100 g de aceite, 1 a 2 g. Se disuelve bien en etanol puro (36).

El benzoato de sodio, con peso molecular de 144.11, se presenta como polvo blanco cristalino o en gránulos. Su solubilidad en agua a temperatura ambiente es de 50 g/100 ml. La solubilidad en alcohol es de 1.3 g/100 ml.

El ácido benzoico pueda extraerse de los alimentos por destilación en corriente de vapor de agua, lo cual sirve para su valoración cuantitativa. En casos especiales también se le puede separar con disolventes orgánicos de un alimento maríticamente acidificado y saturado con sal (27,1). Para la valoración cuantitativa se emplea sobre todo la espectrofotometría a 230 y 272 nm (8). Un método de análisis para el benzoato de sodio se encuentra en "Official Methods of Analysis" del A.O.A.C., ed 1965 p. 450. Determinaciones cualitativas del ácido benzoico se pueden hacer por cromatografía de capa fina en platos kieselguhr-silica gel revelado con un sistema hexano-ácido acético. Los platos se observan bajo luz ultravioleta, o pueden ser rociados con algunos de los reactivos identificadores. La técnica puede hacerse cuantitativa removiendo la mancha, extrayendo con etanol y midiendo la absorción UV (8).

En la industria, el ácido benzoico se obtiene por oxidación catalítica, o por el oxígeno del aire, del toluol. También tiene importancia práctica la hidrólisis del tricloruro de benceno y el tratamiento del anhídrido del ácido ftálico fundido con vapor en presencia de catalizadores de zinc (1).

- Toxicidad del ácido benzoico:

a) Toxicidad aguda: La LD_{50} del ácido benzoico para la rata por vía oral es de 1.7-3.7 g/kg de peso. La LD_{100} para conejos, cobayos, perros y gatos es de 1.4-2.2 g/kg de peso. A menudo los gatos son especialmente sensibles, siendo mortal una dosis hasta de 0.3-0.8 g/kg (1). En concentraciones suficientes es objetable y aún venenoso (8). El ácido benzoico puede producir irritación de la piel con aplicación local y han habido reportes de respuestas alérgicas por ingestión oral de benzoato en individuos sensibles. Sin embargo, estos casos no proveen bases para reconsiderar el uso de benzoatos (9).

b) Toxicidad subcrónica: La adición de un 3% de ácido benzoico al alimento en ratas produce al cabo de 4-5 días trastornos del sistema nervioso central, ataxia y convulsiones tónicas-clónicas, pero ninguna alteración orgánica detectable macroscópicamente, ni síntomas anatomopatológicos en el corazón, hígado y riñones. Al cabo de 5 días murió la mitad de los animales en experimentación y pudieron constatarse alteraciones necróticas del cerebro (1).

Pruebas de toxicidad subaguda muestran que el benzoato de sodio es relativamente más tóxico que el sorbato de sodio; sin embargo, por la extensa experimentación en investigación humana, llevada a cabo por el departamento de agricultura de E.U., se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- "El benzoato de sodio en pequeñas dosis (debajo de 0.5 g por día), mezclado con alimentos, no tiene acción nociva ni venenosa y no es nocivo para la salud".

- "El benzoato de sodio en dosis elevadas (mayores de 4 g por día), mezclado con alimentos, no se ha encontrado que ejerza efectos nocivos en la salud en general, no actúa como veneno en la aceptación general del término. En algunas administraciones, hay ligeras modificaciones en ciertos procesos fisiológicos, siendo desconocido el exacto significado de ellas".

- "La incorporación del benzoato de sodio a la comida en pequeñas o grandes dosis, no se ha encontrado que afecte nocivamente o deteriore el valor nutritivo de los alimentos".

d) Toxicidad crónica: La ADI establecida es de 0 a 5 mg/kg de peso por día. Una dosis de 40 mg/kg de peso por día de ácido benzoico durante 17 meses a ratones, y 18 meses a ratas, producen trastornos del crecimiento. En la experiencia llevada a cabo con 40 ratas por espacio de 4 generaciones, el 5% de benzoato sódico en el alimento se mostró intensamente tóxico, y todos los animales murieron al cabo de dos semanas. Los animales que recibían el 1% lo soportaron sin consecuencias para el crecimiento, utilización del alimento, reproducción, duración de la vida, curva de peso e histología de 6 órganos.

e) Comportamiento bioquímico: El ácido benzoico se reabsorbe con facilidad en el intestino. No se liga a las proteínas ni se oxida. En su mayor parte se "activa" uniéndose a la coenzima A, formando benzil-CoA. Bajo la influencia de la glicil-N-acilasa, forma con la glicina ácido hipúrico (benzoyl-glicina), que se elimina por la orina. En hombres, ratas y conejos, se elimina rápidamente (8). Se ha encontrado que este mecanismo de cuenta del 60 al 85% del ácido benzoico ingerido cuando los sujetos toman cantidades que exceden grandemente a las utilizadas normalmente en alimentos. Se sugiere que los residuos de benzoato no excretados como ácido hipúrico, sean eliminados por conjugación como ácido glucurónico.

- Normas legales:

Desde hace muchos años en la mayoría de los países se permite el uso del ácido benzoico y del benzoato sódico para la conservación de muchos alimentos. Salvo excepciones determinadas, las cantidades máximas permitidas oscilan entre 0.15 y 0.25%. En U.S.A. se ha permitido el empleo del ácido benzoico y del benzoato de sodio por el Code of Federal Regulations (16); Title 21 § 181.1021, en concentraciones hasta del 0.1% y de acuerdo a algunas normas para alimentos estandarizados (37,5,30).

Sin embargo, la Administración de Alimentos y Drogas está reevaluando la lista de aditivos seguros, y parece ser que el ácido benzoico y el benzoato de sodio, por tener restricciones cuantiosas, serán sometidos a una regulación de aditivos alimenticios (6).

- Acción contra los microorganismos:

a) Criterios generales de actividad: La actividad antimicrobiana del ácido benzoico se debe a su acción sobre diversas enzimas de la célula microbiana (1,37). En muchas bacterias y levaduras se inhiben enzimas que regulan el metabolismo del ácido acético y la fosforilación oxidativa. Intervienen en muchos pasos del ciclo cítrico, principalmente para la alfa-cetoglutarato- y succinico deshidrogenasa. Además de este efecto inactivador de las enzimas, el ácido benzoico actúa también sobre la pared celular. Para actuar en el interior de la célula, es necesario que atraviese la membrana, lo que hacen sobre todo las moléculas no disociadas. Así se explica porqué su acción está ligada al pH, ya que solamente la parte no disociada tiene acción antimicrobiana. No se desarrollan formas resistentes al ácido benzoico (1).

b) Espectro de acción: La actividad del ácido benzoico se dirige casi exclusivamente contra levaduras y mohos. Las bacterias solo se inhiben en parte (30,5). Las bacterias lácticas y los clostridios son los menos atacados.

- Aplicaciones:

a) Productos grasos: Durante muchos años el ácido benzoico fue la sustancia de elección para conservar la margarina (37,8). La concentración empleada es de 0.08-0.15%. Se adiciona ácido benzoico a la fase grasa y/o benzoato sódico a la fase acuosa en las cantidades correspondientes. En la actualidad solo tiene una importancia secundaria.

El ácido benzoico y el benzoato sódico conservan su importancia para la conservación de la mayonesa y alimentos que la contengan, ya que como emulsiones de aceite en agua son más atacables por los microorganismos que las emulsiones inversas. En general se emplea el benzoato sódico mezclado con el sorbato potásico, combinación que es más activa contra las bacterias acidificantes que cada uno de los componentes por separado. Además, la presencia de sorbato mejora las características sensoriales.

b) Productos de huevo: El ácido benzoico se emplea para conservar la yema de huevo líquida, tanto salada como sin salar. A causa del elevado pH la concentración empleada es de 0.8-1.2%.

c) Productos de pescado: Tiene cierta importancia en forma de benzoato de sodio para la conservación de escabeches de pescado, donde sobrepasa al ácido sórbico, pero está muy por debajo de la hexametilentetramina. Se usa añadiendo al hielo para la conservación de pescado (5,8).

d) Verduras: En forma de benzoato sódico se usa para la conservación de verduras en vinagre, donde da buenos resultados a causa del bajo pH de estos productos. Su sabor queda enmascarado por el contenido en ácido y por la condimentación. La concentración empleada es de 0.1-0.25%.

e) Frutas y bebidas: El ácido benzoico es un conservador muy apropiado para productos de frutas ácidas, así como para conservas ácidas. Por solubilidades, se aplica la sal sódica en concentraciones de 0.1 a 0.13%. Para la conservación de zumos de frutas puros se usa el ácido benzoico en la misma forma que para las pulpas de frutas. Normalmente se le combina con pequeñas cantidades de SO_2 para proteger también al producto de oxidaciones, ataque enzimático y ataque bacteriano. De igual forma puede utilizarse la pasteurización para inactivar enzimas y disminuir el número de gérmenes. Se utiliza en concentraciones de 0.05 a 0.2%. El benzoato de sodio se empleaba en la salsa de tomate embotellada (actualmente no se permite), en sidras (5,8) y en bebidas refrescantes no alcohólicas.

f) Embutidos: Retardan el crecimiento superficial en embutidos y evitan que toman un color verde (37).

g) Panificación: Como hablamos mencionado, su uso en panificación se limita a productos ácidos como los rellenos de fruta, mermeladas, jaleas y geles.

- Distribución y almacenamiento:

El benzoato de sodio se debe conservar en un lugar frío y seco. Los frascos deben permanecer cerrados el mayor tiempo posible. No es corrosivo y presenta sólo poco peligro como tóxico o como producto inflamable, bajo condiciones normales.

3.3.2 Ácido propiónico y sus sales:

En la actualidad se emplean en productos de panificación las dos sales del ácido propiónico: el propionato de calcio y el de sodio, que se comercializan en forma de un polvo blanco y son muy efectivos. Como el ácido propiónico en estado líquido es muy corrosivo y posee un olor muy fuerte, no se emplea como tal.

Las sales se convierten a la forma de ácido libre dentro del margen de pH de la mayoría de los alimentos. Un exceso de propionato imparte un ligero sabor a queso (33,6). El pH óptimo de acción se encuentra por arriba de 6, dependiendo del alimento. Es el propionato de sodio el que generalmente se usa en pastelería, para evitar la interferencia del ión calcio con el polvo de hornear.

Cuando se usa propionato de sodio en productos de panificación, deberá eliminarse de la fórmula un porcentaje de sal igual al del inhibidor empleado.

Como resultado de su amplio uso en pan y productos de panificación, los propionatos de sodio y calcio son los agentes antimicrobianos más importantes y más empleados, sumando un 75% aproximado del total de los inhibidores químicos (36).

En la técnica de los alimentos se usan solamente sus sales sódicas y cálcicas. Productos comerciales conocidos son el Mycozan y el Molagen (1,6). Sus fórmulas moleculares se muestran a continuación:



Propionato de sodio



Ácido propiónico



Propionato de calcio

El ácido propiónico tiene un peso molecular de 74.08; en estado puro es líquido transparente, miscible en agua en todas proporciones, de desagradable olor picante, que hierve a 141°C (5,8).

El propionato sódico tiene un peso molecular de 96.06 y el propionato cálcico de 186.22; son polvos blancos, fácilmente solubles en agua, con olor a ácido propiónico. Ambas sales son muy solubles. La sal de sodio es la más soluble, disolviéndose en un rango de 150 g por 100 ml de agua a 100°C y en alcohol en un rango de 4 g por 100 ml a 25°C. El propionato de calcio se disuelve en agua en un rango de 55.8 g por 100 ml a 100°C y es insoluble en alcohol (8).

El ácido propiónico y sus sales destilan en corriente de vapor de agua y en el destilado se les puede determinar por cromatografía sobre papel o capa fina. No se conocen reacciones coloreadas específicas. La valoración cuantitativa puede hacerse por cromatografía de gases.

El ácido propiónico aparece como producto secundario en la obtención del ácido acético por oxidación de hidratos de carbono. Directamente puede obtenerse tratando etileno con monóxido de carbono y agua. Los propionatos se originan al neutralizar el ácido propiónico con las bases correspondientes.

- Toxicidad del ácido propiónico:

a) Toxicidad aguda: La LD_{50} del ácido propiónico para la rata por vía oral es de 2.6 a 4.3 g/kg de peso. La del propionato sódico es de 6.3 g/kg y la del propionato cálcico 5.2 g/kg.

En forma concentrada el ácido propiónico es irritante para la piel y las mucosas (7).

b) Toxicidad subcrónica: Las ratas jóvenes soportan durante muchas semanas una alimentación a la que se ha añadido 1 a 5% de propionato sódico o cálcico. Su desarrollo es tan bueno como el de las controles. La adición de 24% de propionato a la dieta de ratas jóvenes produce la muerte en 5 días; Las ratas adultas resisten unos 20 días pero con lesiones.

c) Toxicidad crónica: La ADI para los propionatos no tiene límites. La alimentación con una dieta compuesta por un 75% de pan que a su vez contiene 5% de propionato de sodio durante un año no produce ninguna lesión orgánica específica. No influye ni sobre el crecimiento ni sobre la mortalidad de los animales.

d) Comportamiento bioquímico: Tanto el ácido propiónico como los propionatos son fácilmente absorbidos en el tracto digestivo debido a su buena solubilidad en agua. No hay peligro de que se acumule en el organismo. El organismo utiliza el ácido propiónico con fines catabólicos igual que a los ácidos grasos. Una parte se transforma en glucosa, glucógeno y otros productos metabólicos. Ni aún cuando se ingiere en grandes cantidades se elimina por la orina. Su degradación en tejidos de los mamíferos se lleva a cabo por la unión con la coenzima A, transformándose en metilmalonil-coenzima A, succinil-coenzima A, succinato y finalmente CO_2 y agua.

Junto a esta vía de degradación, existe también la posibilidad de que se transforme en β -alanina pasando por succinato. En la degradación de una serie de aminoácidos se forma ácido propiónico, así como en la oxidación de ácidos grasos de número impar de átomos de carbono. Por lo tanto no se trata de ninguna sustancia extraña sino de un producto fisiológico del metabolismo intermediario.

- Normas legales:

La FAO/WHO no limita el ADI de los propionatos por ser metabolitos fisiológicos en el hombre (18). En casi todos los países con producción industrial está permitido el uso de propionato sódico y cálcico o de ácido propiónico, para la conservación de pan y en parte también para pastales. En U.S.A. se permite el uso del ácido propiónico y propionatos para la conservación de alimentos en general de acuerdo con el Code of Federal Regulations (16); Title 21§182.3081, §182.3221 y §182.3784 sin limitación y de acuerdo con §17 hasta una cantidad máxima de 0.38% para pan integral (38).

- Acción contra microorganismos:

a) Criterios generales de actividad: Existe una serie de microorganismos que eliminan ácido propiónico como producto metabólico y muchos otros que son capaces de quemar el ácido propiónico existente. Cuando se encuentra en grandes concentraciones, como es el caso en la conservación de alimentos, actúa como inhibidor, ya que se acumula en la célula e interfiere el metabolismo por bloqueo enzimático. Actúa también inhibiendo el crecimiento, debido a que entra en competencia con sustancias esenciales para los microorganismos, sobre todo con alanina y otros aminoácidos. La acción antimicrobiana del ácido propiónico depende en gran parte del pH de la mercancía conservada, como sucede con otras sustancias conservadoras. Debido a su baja constante de disociación, su comportamiento en este aspecto es tan favorable como el del ácido sórbico, que puede emplearse para alimentos con valores de pH elevados.

b) Espectro de acción: Su espectro de acción no puede delimitarse con exactitud debido a lo inespecífico de su mecanismo de acción. De la experiencia práctica se deduce que es activo sobre todo contra los mohos, aunque hay especies de *Penicillium* que crecen en medios de cultivo que contienen más del 5% de ácido propiónico. También inhibe a las levaduras y de las bacterias sobre todo a las gram-negativas. La acción antimicrobiana del ácido propiónico es débil en comparación con la de otras sustancias inhibitoras, sin embargo, es de gran importancia práctica su actividad contra el *Bacillus mesentericus*, que produce la filamentosidad del pan (9).

- Aplicaciones:

a) Productos lácteos: La inmersión de trozos de queso Cheddar en una solución al 8% de ácido propiónico, incrementa la vida de anaquel a 28°C de la usual de 3 a 5 días hasta 12 a 28 días (8).

b) Encurtidos: El ácido propiónico ha sido añadido a la sal en la fermentación de alimentos para controlar a los hongos, especialmente en encurtidos.

c) Frutas y vegetales: Se están realizando estudios que prometen, no solo de hongos, sino también de bacterias en estos alimentos (8).

d) Panadería: Es el principal uso de propionatos. Además de emplearse en diversos tipos de panes, se emplea también en pios y en rellenos de éstos (33).

e) Varios: Se utiliza para rociar empaques de alimentos (8).

TABLA 2. NIVELES DE PROPIONATO SUGERIDOS EN PANIFICACION:

<u>PRODUCTO</u>	<u>NIVEL</u> (BASE PESO TOTAL DEL BATIDO)
BATIDOS O PLANCHAS (TIPO ESPUMA ELABORADO CON CLARAS BATIDAS)	0.09 - 0.22%
PASTEL DE CHOCOLATE	0.32 - 0.44%
PANQUE CON FRUTAS (FRUIT-CAKE)	0.13 - 0.36%
<u>PRODUCTOS DE PANQUELETA, PANQUES FINOS, PASTELES DE TAPAS (BLANCOS O AMARILLOS).</u>	0.25 - 0.38%
PAN BLANCO, PRODUCTOS DE BOLLERIA Y MASAS DE FERMENTACION DULCE.	0.16 - 0.32%
PRODUCTOS DE FERMENTACION OSCUROS, PANES INTEGRALES, MULTIGRANO, DE CEBENO.	0.19 - 0.38%

- Distribución y almacenamiento:

Los propionatos de sodio y calcio presentan un pequeño riesgo durante su almacenamiento: pueden emitir vapores tóxicos si se calientan a altas temperaturas (36,6).

3.3.3 Ácido sórbico y sus sales.-

Apenas hace algunos años comenzó a emplearse el ácido sórbico y su sal de potasio como inhibidor en pasteles, pies, rellenos para pies, panqués con fruta y glases.

La sal de potasio encuentra más aplicación, por ser más soluble en agua que el ácido sórbico. El ácido sórbico es activo hasta un pH de 6.5 (30,6).

El sorbato de potasio exhibe una actividad muy parecida a la del ácido; sin embargo, para lograr la misma protección debe emplearse una cantidad 25% mayor.

El ácido sórbico se sublima por calentamiento. En productos como rellenos y mermeladas, que llevan un periodo prolongado de calentamiento o ebullición, deberá agregarse este inhibidor al finalizar la etapa de calentamiento; con ésto se evitará su pérdida en forma de gas.

El ácido sórbico se emplea puro o como sal sódica, potásica o cálcica en diversas formas de preparación (polvo, granulado, suspensiones, soluciones). Sus ésteres con alcoholes alifáticos de cadena corta que también tienen acción conservadora, no se emplean por su fuerte olor característico. Las fórmulas moleculares del ácido y su sal de potasio son:



Ácido sórbico



Sorbato de potasio

El ácido sórbico tiene un peso molecular de 112.12. Sus cristales son blancos cristalinos monoclínicos de débil olor picante peculiar, de sabor ácido, que funden a 132-135°C. A temperatura ambiente se disuelven en 100 g de agua 0.16 g de ácido sórbico. En 100 g de etanol se disuelven 13 g.

El peso molecular del sorbato de sodio es de 134.11. Es un polvo blanco que se oxida con facilidad, con una solubilidad en agua de 32g/100g. En el mercado se presenta en forma de solución acuosa que se conserva durante algunas semanas.

El sorbato potásico tiene un peso molecular de 150.22. Es un polvo o granulado blanco. Es la más soluble de todas las sales; en 100 g de agua se disuelven a temperatura ambiente 138 g.

Para determinar cuantitativamente el ácido sórbico en los alimentos, se le puede extraer en corriente de vapor de agua. Tras oxidación con dicromato potásico, da un color rojo con el ácido 2-tiobarbitúrico. Como compuesto insaturado, el ácido sórbico tiene un máximo de absorción típico alrededor de los 260 nm (según el pH de la solución) que puede servir para su valoración cuantitativa.

La obtención industrial del ácido sórbico se hace hoy día exclusivamente a partir de cetenas y crotonaldehído. Como producto intermedio se forma un éster polímero. Ya no se emplea más su preparación por oxidación del 2,4-hexadieno.

- Toxicidad del ácido sórbico:

a) Toxicidad aguda: La LD_{50} del ácido sórbico para la rata por administración oral es de 10.5 g/kg de peso. Para la LD_{50} del sorbato sódico se han encontrado valores de 5.94. Por su carácter ácido es irritante para las mucosas, pero no tiene efecto sobre la piel, excepto en las personas especialmente sensibles.

b) Toxicidad subcrónica: Las ratas soportan un 10% de ácido sórbico en el alimento durante 42 días sin ningún daño. En 120 días de duración bajo las mismas condiciones, aumentó el peso de los animales y el peso del hígado. El comportamiento reproductor permaneció normal. La adición de un 5% de ácido sórbico al alimento de ratas y perros durante 90 días se mostró sin efectos perjudiciales, no produjo más que un pequeño aumento de peso del hígado, sin alteraciones histológicas, lo cual puede atribuirse a la utilización calórica del ácido sórbico. El sorbato potásico no tiene acción mutágena ni teratógena.

c) Toxicidad crónica: Las ratas soportan durante toda la vida una adición de 5% de ácido sórbico al alimento sin dar muestras de lesión alguna. Todas las funciones fisiológicas, incluida la reproductora, permanecen normales, aún en la siguiente generación. Ni el ácido sórbico ni el sorbato de potasio tienen acción carcinogénica por vía oral (1).

d) Comportamiento bioquímico: El ácido sórbico se metaboliza como cualquier otro ácido graso. Se elimina como CO_2 y H_2O (20). Se liberan 6.6 kcal/g de las cuales el 50% son utilizables biológicamente.

En el organismo animal, el ácido sórbico se degrada por β -oxidación. No hay eliminación por la orina. Parte del ácido sórbico se utiliza para la síntesis de nuevos ácidos grasos a partir del acetil-CoA originado en la degradación. Por su rango de absorción se tolera más el ácido que su sal.

- Normas legales:

El ácido sórbico y los sorbatos están permitidos en todos los países del mundo para la conservación de muchos alimentos. En U.S.A. el Code of Federal Regulations Title 21§182.3089, §182.3225, §182.3640, §182.3795 permite su uso sin limitación para alimentos en general y de acuerdo a algunas normas para determinados alimentos estandarizados (16). Existe la tendencia en todo el mundo de ir admitiendo el ácido sórbico, a causa de su inocuidad, para sustituir a otros conservadores de menor garantía.

- Acción contra microorganismos:

a) Criterios generales de actividad: La acción antimicrobiana del ácido sórbico se debe a la inhibición de diversas enzimas en la célula microbiana, especialmente enzimas de los hidratos de carbono, como enolasas y lactodeshidrogenasas. Además interviene en forma relativamente activa en el ciclo del citrato, inhibiendo en otras, la maltodeshidrogenasa, isocitratodeshidrogenasa, fumarasa y aspartasa. Además, el ácido sórbico inactiva a las enzimas formando enlaces covalentes entre sus dobles enlaces y los grupos -SH. Atendiendo a la acción del ácido sórbico contra los microorganismos catalasa positivos, es también interesante su influencia sobre la catalasa y las peroxidases.

Para que el ácido sórbico desarrolle su actividad en el interior de la célula microbiana es necesario que atraviese la pared, lo que hacen principalmente las moléculas no disociadas. A causa de su pequeña constante de disociación de 1.73×10^{-4} se le puede emplear para la conservación de alimentos débilmente ácidos con valor de pH elevado, de preferencia a otras sustancias conservadoras.

Ni en *Escherichia Coli* ni en hongos aparece resistencia al ácido sórbico.

b) Espectro de acción: La actividad del ácido sórbico se dirige casi totalmente contra mohos y levaduras. Las bacterias solo son inhibidas en parte (30,33), las catalasa positivas más que las catalasa negativas, más intensamente las aerobias estrictas y muy poco las lácticas y los clostridios.

Algunos microorganismos pueden incluir el ácido sórbico en su metabolismo, siempre que la concentración de ácido sea pequeña y la densidad de gérmenes grande, por lo que el ácido sórbico no puede emplearse para la "conservación" de sustratos muy contaminados, sino solamente para mantener alimentos que estén en buenas condiciones higiénicas, con un número de gérmenes pequeño.

- **Aplicaciones:**

a) Productos lácteos: Donde mayor aplicación encuentra el ácido sórbico es en quesos de cualquier tipo, ya que debido a su reactividad favorable en las zonas altas de pH y a su acción contra los mohos, resulta la sustancia conservadora de elección (33,21).

b) Bebidas: El ácido sórbico en forma de sorbato potásico se emplea sobre todo para conservar zumos que han de sufrir una preparación posterior. En general se le mezcla con pequeñas cantidades de SO_2 para proteger también al producto contra la oxidación, el deterioro enzimático y el ataque de las bacterias (lácticas y acéticas).

c) Productos cárnicos: Adicionando a los embutidos soluciones de sorbato potásico se impide el crecimiento de mohos (5).

d) Productos de pescado: De importancia económica es su empleo en el embudo de pescado y en preparación de pescado de los países orientales. Generalmente se le combina con otras sustancias conservadoras (21).

e) Productos de panificación: En la panadería, el ácido sórbico no solo se utiliza con fines económicos, sino también por su acción contra los formadores de aflatoxinas. Se adiciona en una proporción de 0.1 a 0.2% referido al peso de la harina durante la preparación de la masa.

TABLA 3. NIVELES DE SORBATO SUGERIDOS EN PANIFICACION:

<u>PRODUCTO</u>	<u>NIVEL</u> (BASE PESO TOTAL DEL BATIDO)
BATIDOS O PLANCHAS	0.03-0.06%
PASTEL DE QUESO	0.09-0.125%
PASTEL DE CHOCOLATE	0.09-0.125%
PASTEL DE CHOCOLATE TIPO DEVIL FOOD (PH ELEVADO)	0.3%
PANQUE CON FRUTAS	0.075- 0.10%
<u>PRODUCTOS DE PANQUELERIA,</u> PASTELES DE TAPAS (BLANCOS Y AMARILLOS)	0.075-0.10%
HARINAS PREPARADAS PARA PASTEL	0.05-0.10%

- Distribución y almacenamiento:

Tanto el ácido sórbico como el sorbato de potasio deberán almacenarse a temperaturas inferiores a los 37°C. No se deben exponer a la luz ni al calor y deberán mantenerse cerrados los recipientes que los contienen. Nunca deberán de remojar en sorbatos papeles, telas y materiales absorbentes, porque se quemarán espontáneamente. Los sorbatos pueden causar irritación a los ojos, por lo que deben manejarse cuidadosamente (27).

IV.- TIPOS DE DECOMPOSICION MICROBIANA EN EL PAN:

El problema de las contaminaciones microbiológicas en productos de panificación es tan antiguo como la panificación misma. Este se ha acentuado desde el comienzo de la producción panadera a gran escala, siendo los mohos (contaminación fungal) y la bacteria tipo rope (contaminación bacteriana) los principales grupos de microorganismos que afectan al pan y otros productos de panificación.

La mayoría de la materia prima utilizada en panificación, así como los productos terminados, están sujetos a la contaminación microbiológica, ya que existen las condiciones adecuadas para que ésta se presente, como son el disponer de materias nutritivas, temperatura y actividad acuosa favorables, presencia o ausencia de oxígeno, potencial redox y valor de pH necesarios para su crecimiento. Dicha infección puede resultar de los microorganismos que se encuentran presentes en los ingredientes utilizados para la elaboración del producto, o de fuentes exteriores, tales como el aire o material de envoltura.

La fuente principal de la mayoría de las infecciones microbianas en productos de panificación ha sido encontrada en el aire. Se ha establecido que la severidad de una infección está directamente relacionada con el contenido de polvo en el aire y el tiempo de exposición del producto al medio antes de la envoltura. Se ha demostrado que las esporas de mohos de un pan contaminado se dispersan en un edificio de tres pisos en 10 minutos. Por lo tanto, la aplicación de modernas prácticas sanitarias ayudará a reducir el problema de contaminación de mohos y bacteria tipo rope, aún cuando no lo elimine (34).

4.1 Mohos:

Los mohos constituyen la causa más frecuente y, por tanto, la más importante de la alteración del pan, y de hecho, de la mayor parte de los productos de panadería, ya que prevalece en ellos un medio ideal para su crecimiento. Los mohos deben llegar a la superficie del pan o penetrar en su interior después de cocido, puesto que el tratamiento al que se ha sometido es suficiente para destruir las esporas, tanto en el interior como en la superficie del mismo. Pueden proceder del aire durante el enfriado, de la manipulación o de las envolturas, y comienzan generalmente a desarrollarse en la corteza del pan o entre las rebanadas del que se vende ya cortado.

Por otro lado, muchas áreas de la planta, tales como las cámaras de vapor y los enfriadores para pan, ofrecen condiciones de humedad y temperatura que propician la proliferación de mohos, los cuales forman grandes colonias, atacan y debilitan estructuras de madera, manchan superficies pintadas y generan olores a moho, razones de más por las que deben de ser eliminados (36).

4.1.1 Micología:

Los hongos crecen como células únicas (levaduras) o como colonias filamentosas (mohos). Los mohos son protistas superiores no fotosintéticos. Están formados por unos filamentos ramificados y entrecruzados llamados hifas, cuyo conjunto forma al micelio (38,39).

Están constituidos por dos partes:

- a) Una porción vegetativa que llena el medio celular, de la cual se alimenta el moho. En la mayoría de los casos es blanca o incolora.
- b) Una porción reproductora que crece en la parte vegetativa y se extiende al aire. Aquí es en donde se reproducen las esporas, conjunto que denota el color o colores que le son característicos: azul, verde, café, rosado, etc. (37).

El micelio puede formar una red más bien floja, como en el caso de los mohos del pan, o un tejido compacto, como en el caso de los hongos carnosos.

Con el examen microscópico de las hifas, se proporcionan caracteres muy útiles para la identificación de los diferentes géneros de mohos. Existen dos tipos:

a) Mohos con hifas septadas:

Los mohos septados llevan tabiques transversales, que dividen a las hifas en varias celditas, es decir, las hifas están formadas por una serie de células individuales. Sin embargo, presentan perforaciones que permiten el paso de núcleos y citoplasma, son cenocíticos (38). Las células pueden contener uno o más núcleos diminutos. Aumentan la longitud por división de la célula apical (la del extremo superior) o por división de las células intermedias.

b) Mohos con hifas no septadas:

Las hifas de estos mohos son cilíndricas y carecen de tabiques transversales. Poseen núcleos diseminados en toda su longitud, por lo que se consideran multicelulares (37).

Los hongos exhiben los tres tipos fundamentales de reproducción de los organismos vivos en general:

- a) Multiplicación vegetativa
- b) Formación asexual de esporas
- c) Reproducción sexual

a) Multiplicación vegetativa:

Los hongos pueden desarrollarse a partir de un micelio, pero esto es raro que ocurra. Una parte del cuerpo vegetativo se transforma en el individuo de la siguiente generación. Al separarse una pequeña parte del micelio del cuerpo principal, en algunos casos continuará su crecimiento independiente y formará una nueva colonia mediante el simple proceso de división celular.

b) Formación asexual de esporas:

Las esporas asexuales se producen en gran cantidad. Son pequeñas, ligeras y resistentes a la desecación. El aire las disemina fácilmente originándose nuevos mohos en donde se encuentren condiciones favorables para crecer (36). Todos los hongos se reproducen por esporas de uno u otro tipo. En los hongos más desarrollados las esporas reproductoras asexualmente preceden en gran número sobre las hifas fecundadas, característicamente muy diferenciadas. En otros hongos se producen las esporas directamente de la parte que se desarrolla (vegetativa) del hongo sin ninguna estructura reproductora especial. Todos los hongos, a excepción de los imperfectos, pueden formar esporas sexuales de alguna clase (38).

Los principales tipos de esporas asexuales son:

a) Esporangiosporas:

Usualmente, cuando el hongo tiene algunos días, proyectará ramas verticales numerosas que, en un comienzo son filamentos simples de un grosor uniforme. Muy pronto, sin embargo, aparece una protuberancia, conocida como columela, en la punta de cada rama. Las columelas al principio son incoloras y crecen formando esferas. Después de un día o menos, se toman de color negro o de otro color característico de los mohos. Esta coloración se debe al contenido de la esfera, formando cientos de esporas pequeñas, cada una equipada con un núcleo y citoplasma, rodeado por una pared colorida. Los mohos, en la mayoría de los casos se hacen visibles cuando alcanzan esta etapa. Las esporas endógenas, es decir, las que se forman dentro de un saco o pared, se conocen como esporangiosporas, y el saco es el esporangio. La extremidad de la hifa fértil se carga al esporangio en el esporangióforo. Cuando las esporas alcanzan cierta madurez, se rompe el esporangio a causa de las fuertes presiones internas y expulsa fuertemente a las esporas, lo que facilita su distribución. Es característico de los géneros Mucor y Rhizopus (36).

b) Conidióforas:

Forman esporas exógenas. Las ramas verticales, llamadas conidióforos, forman una punta globular, de la cual emergen numerosas ramas pequeñas, nombradas esterigmas, creando un aspecto de cepillo. Las esporas conocidas como conidios o conidiosporas son formadas por la constricción de los esterigmas, resultando una cadena de esporas. Las conidiosporas descargadas germinan y forman un nuevo micelio. Ejemplos de ellos son Aspergillus y Penicillium.

c) Artrósporas:

Se forman por fragmentación de una hila, cuyas células se convierten en artrósporas. A menudo, estas células redondas o cilíndricas de pared más gruesa, se ven todavía en su lugar en el filamento segmentado.

d) Blastósporas:

Yemas formadas por un proceso de germinación a partir de la superficie de la célula progenitora. Gemación es el método característico por el que se multiplican las levaduras verdaderas.

e) Clamidósporas:

Parte hinchada y redondeada de una hila, rodeada por una pared gruesa y resistente. Es una parte enquistada y permanente del hongo, capaz de resistir ambientes desfavorables.

c) Esporas sexuales:

Se encuentran dos tipos de esporas sexuales entre los hongos:

a) Zigósporas:

Formadas cuando dos hilas no diferenciadas se fusionan, a partir de desarrollos vecinos, para formar una sola estructura segmentada y redondeada, de la cual surgirá más tarde una hila nueva. Los géneros Mucor y Rhizopus a veces forman zigósporas (39).

b) Ascósporas:

Esporas sexuales formadas dentro de un saco (ascus) cerrado y especialmente desarrollado. La formación real de las ascósporas es posterior a un proceso sexual rudimentario, que comprende la fusión de los núcleos de los gametos de las células progenitoras. Es el tipo de reproducción sexual característico de los Ascomycetes.

De acuerdo a su reproducción sexual y a la estructura del micelio, los hongos se dividen en cuatro grandes clases:

a) Phycomycetes (Ficomícetos):

Presentan esporas libres o envueltas en el esporangio. Comprende, entre otros, dos géneros que comúnmente aparecen en las plantas panaderas como contaminantes de la harina y el pan. Estos son Mucor y Rhizopus. Son la única clase en la que los filamentos o hifas son continuas, sin septas.

b) Basidiomycetes (Basidiomicetos):

Las esporas se forman en la superficie de una estructura llamada basidio. Esta clase comprende una variedad de mohos parásitos, que atacan al trigo y a otras plantas. También incluye una serie de hongos grandes y carnosos comestibles y no comestibles (36).

c) Ascomycetes (Ascomícetos):

Este es el orden más extenso de hongos y contiene numerosas e importantes especies. Se caracteriza por la formación de ascosporas, que son sacos o ascas que contienen a las esporas. Las levaduras pertenecen a esta clase, así como varios mohos presentes frecuentemente en productos de panificación, como Aspergillus y Penicillium.

d) Deuteromycetes (Hongos Imperfectos):

Constituyen una clase más bien artificial, creada para agrupar a todos los mohos incapaces de reproducirse mediante la formación de esporas sexuales, o de los que no se conoce completamente su ciclo reproductivo. Aquí encontramos a la mayoría de los hongos patógenos para el hombre y los animales (37).

Los hongos contaminantes de los alimentos pueden afectar la salud del hombre y los animales fundamentalmente a través de la elaboración de sus toxinas, denominadas en este caso micotoxinas.

A los síntomas de toxicidad que producen al ser ingeridas se les llama micotoxicosis para distinguirlos de la micosis que invade los tejidos vivientes por crecimiento activo de los hongos.

Los metabolitos tóxicos son muy numerosos. Hasta el momento se describen más de 200 que pueden causar micotoxicosis y son elaborados por diversas especies de hongos. Hay siete micotoxinas cuya presencia en alimentos puede significar un peligro para la salud. Son las aflatoxinas, la zearalenona, la ocratoxina A, la citrinina, los tricotecenos, la patulina, el ácido penicilínico y los alcaloides del comaezuelo.

Recién en el año de 1961 se determinó que las micotoxinas podían acarrear peligros reales para la salud cuando se descubrió el poder carcinogénico de las aflatoxinas.

Las aflatoxinas son metabolitos tóxicos producidos por *A. flavus* y *A. parasiticus*. Son compuestos heterocíclicos difuranocuramidas. Los cuatro metabolitos principales producidos naturalmente son B1, B2, G1 y G2. Si realmente todas las micotoxinas formadas naturalmente en los alimentos representan un riesgo para el hombre es algo bastante difícil de asegurar, debido al estado actual de los conocimientos del tema.

Esto solo podrá ser establecido mediante el examen de gran número de muestras de alimentos para detectar micotoxinas, tanto en términos de incidencia como en nivel de contaminación y a través de la interpretación de estas evidencias en relación con los datos toxicológicos que se conocen por estudios con animales de laboratorio.

Los factores más importantes que influyen en la formación de micotoxinas son el Aw o HR, la temperatura, composición del sustrato y la flora y fauna competitiva. Las aflatoxinas contaminan mayormente a los alimentos que contienen considerable cantidad de proteína y calorías como son las semillas de las oleaginosas y los granos de cereales. El maíz y el maíz son los de mayor grado de incidencia.

El modo de acción de la aflatoxina B1 fué muy estudiado. La aflatoxina se une al DNA y se inhibe la síntesis del RNA mensajero. Lo que se observa es una marcada disminución de la síntesis de proteínas, la cual sería responsable de la necrosis hepática. En cerdos, terneros y en aves, se observa una disminución de peso significativa y poco rendimiento. Vacas lecheras, alimentadas con cantidades moderadas de aflatoxinas, excretan en la leche cantidades detectables de aflatoxina M1.

El grupo de la OMS sobre micotoxinas, reunido en Ginebra en 1977, recomendó medidas preventivas para reducir la contaminación fúngica y sus toxinas a nivel agrícola, secado y control de insectos:

Método de descontaminación:

- Separación de las partes contaminadas por métodos mecánicos o manuales.
- Extracción de las toxinas con solventes.
- Inactivación por métodos físicos como calor, tostado, químicos como oxidantes o biológicos por degradación microbiana.

Todos estos métodos deben destruir la toxina, no producir residuos tóxicos o cancerígenos, o bien, destruir al hongo, preservar el valor nutritivo y no alterar el sabor del alimento.

El grupo Asesor de Proteínas de la FAO y OMS estableció un valor de 30 ppb para maíces empleados para suplementos protéicos. Este nivel pareció demasiado alto para la FDA y para varios países europeos quienes han puesto sus propios límites (25).

Sería difícil establecer si en el producto en estudio se encuentran aflatoxinas y en que niveles, ya que, como se mencionó anteriormente, requiere un gran número de muestras y no importa a nuestro objetivo.

4.1.2 Necesidades fisiológicas de los hongos:

a) Necesidades Hídricas:

La actividad acuosa es el cantidad de agua disponible para el crecimiento microbiano.

Se relaciona con la presión osmótica, ya que entre mayor sea la concentración de solutos en el agua, menor es la actividad acuosa, y más inhibitorio se vuelve el medio para el crecimiento microbiano. Una elevada concentración de azúcar o sal ejerce una elevada presión osmótica, provocando una pérdida de fluido de la célula, siendo ésto fatal para el organismo. Matemáticamente, la actividad acuosa es la presión de vapor de la solución (de los solutos en el agua en la mayoría de los alimentos), dividida por la presión de vapor del disolvente (generalmente agua). La actividad acuosa del agua pura es de 1.00.

Cada moho posee una actividad acuosa óptima. Una actividad acuosa menor a 0.70 es suficiente para inhibir a la mayoría de los mohos productores de alteraciones alimenticias. En general, la mayoría de los hongos requieren menos humedad para desarrollarse que la mayoría de las bacterias y levaduras, aunque existen excepciones notables (36,37). Algunos mohos se desarrollan bien con un porcentaje de humedad del 15% (34).

En un alimento puede determinarse aproximadamente el límite total de agua que permite el crecimiento de los mohos. Por debajo de un contenido total de humedad del 14-15%, como el que se presenta en la harina o ciertas frutas secas, se detiene o se retrasa muchísimo el crecimiento de hongos. El pan blanco de caja posee un contenido de humedad de aproximadamente 38%, por lo que presenta un medio muy favorable para el crecimiento fúngal.

b) Temperatura:

La mayoría de los hongos son mesófilos, es decir, crecen bien a temperatura ambiente. La mayor parte se desarrolla a una temperatura óptima entre los 35° y los 37°C. Algunos hongos son psicrófilos, es decir, crecen bien a temperaturas de congelación o refrigeración (36,37). Las esporas de mohos y levaduras son aniquiladas por altas temperaturas. El pan, por tanto, es estéril en lo referente a mohos y levaduras en el punto en que sale del horno.

c) Necesidades de pH y oxígeno:

La mayoría de los mohos crecen entre un margen de pH muy amplio (2 a 8.5), pero casi todos lo hacen mejor a un pH ligeramente ácido. Los mohos son principalmente aeróbicos. Cualquier crecimiento de moho que ocurra se hará solo en la superficie del alimento (34).

d) Presión osmótica:

Los mohos pueden vivir en un medio con una alta concentración de nutrientes. Así, los mohos pueden desarrollarse en algunas mermeladas y jalebes en donde la concentración de azúcar es muy elevada.

e) Necesidades alimenticias:

Los mohos utilizan diversos tipos de alimentos, tanto los sencillos como los complejos. Por lo general, contienen gran cantidad de enzimas hidrolíticas, y algunos se cultivan para obtener amilasas, proteinasas y lipasas. Generalmente almacenan glucógeno como material de reserva (38).

f) Inhibidoras:

Ciertos mohos elaboran sustancias que son inhibitoras para otros microorganismos; por ejemplo, la clavacina (*Aspergillus clavatus*). El crecimiento inicial de los mohos es lento, comparado con el de las bacterias y levaduras, por tanto, cuando las condiciones son favorables para el desarrollo de todos estos microorganismos, los mohos se encuentran en condición desfavorable de competencia. Sin embargo, una vez iniciado su crecimiento, éste puede ser rápido (37).

4.1.3 Microorganismos más importantes en el amohamiento del pan:

Los microorganismos que más comúnmente se presentan en el pan son:

a) Mucor:

Los mohos pertenecientes a este género tienen micelios no septados y producen esporangiosporas negras. Mucor mucedo es la especie más conocida. Forma un micelio áspero, algodónoso y blanquecino, cuyos filamentos individuales pueden llegar a medir 15 cm o más. A menudo se ve sobre materia orgánica en descomposición.

b) Rhizopus:

Rhizopus nigricans es la especie más conocida de este género y se conoce como "mocho negro del pan". También lleva un micelio no septado, blanquecino y con esporas negras. Se distingue del género Mucor por la formación de rizoides, raicillas que se sumergen hacia el interior del pan y desde donde absorben agua y materia orgánica. Estos rizoides también forman esporangióforos. El mocho se extiende rápidamente sobre la superficie formando estolones, tal como las plantas de fresas. El micelio primero es blanco y luego se torna café. Contiene gran cantidad de enzimas amilolíticas y proteolíticas. Estas permiten el desarrollo del mocho sobre almidón.

c) Aspergillus:

Los *Aspergillus* forman un micelio septado y pueden reconocerse por el arreglo característico de sus conidios y conidióforos. Los filamentos verticales no ramificados se originan de una célula "pie" alargada del micelio vegetativo.

En el extremo superior del filamento aparece una protuberancia, de la cual emergen varios esterigmas, que eventualmente forman cadenas de conidios, impartiendo al total de la estructura globular un aspecto de cepillo. Las especies más comúnmente encontradas en panadería incluyen: *A. glaucus*, que forma conidios verdes o gris-verdos y *A. niger*, que forma grandes masas de conidios negros y que, por tanto, muchas veces se confunde con *Rhizopus nigricans*.

d) Penicillium:

Los mohos de este género, al igual que los de *Aspergillus*, poseen micelios septados. También producen conidios a partir de esterigmas, cuya forma recuerda a los cepillos. Las varias especies difieren en el color y la forma de sus conidios. Las especies de *Penicillium* se presentan en pan viejo y generalmente se reconocen por su color azul o verde ligeros. *P. expansum* o *stoloniferum* es un contaminante de esporas verdes en el pan.

Algunas especies de *Penicillium* han adquirido mucha importancia como fuente productora del antibiótico penicilina, producido por *P. notatum* y *P. chrysogenum*.

e) Cidium y Monilia:

Estos son organismos intermedios entre las levaduras y los mohos, clasificándose por lo general con estos últimos. Su posición intermedia se debe a que, a pesar de que casi siempre forman un micelio, también pueden existir en estado celular y reproducirse por gemación, al igual que las levaduras. *Cidium lactis* es una especie típica y se presenta en leche agria y otros productos lácteos. *C. aurantiacum* a veces provoca un color rojo en la miga del pan integral. *Monilia sitophila* (o *Neurospora sitophila*) forma una red floja de micelio que, después de formados los conidios, toma un color naranja y rojo salmón. Este organismo es perjudicial, provoca epidemias ocasionales de productos de panificación contaminados. Sus esporas generalmente resisten el calor, pudiéndose exponer a 120°C durante 30 segs en estado seco.

f) Endomyces y Trichosporum:

Endomyces fibuliger y *Trichosporum* variable provocan el defecto conocido como "pan yesoso". Recibe este nombre por presentar ciertas manchas blanquecinas con aspecto de tiza o yeso.

4.2 Bacterias:

Resulta prácticamente imposible prevenir el acceso de bacterias perjudiciales a la panadería, ya que la atmósfera está repleta de bacterias y sus esporas. Además casi cualquier ingrediente utilizado en la panadería contiene bacilos productores de bacteria tipo "rope". En las prácticas comerciales, las principales fuentes de contaminación son: harina, levadura y malta, siendo la harina el ingrediente más problemático. Se pueden desarrollar así mismo otras fuentes de infección tales como rajaduras en artezas, mezcladoras u otra maquinaria, que pueden albergar estos bacilos. Las temperaturas normales de horno generalmente matan a las células vegetativas de las bacterias, sin embargo, estas temperaturas, que no exceden los 99°C en el interior de la hogaza, son insuficientes para matar a las esporas de los bacilos.

Los problemas de pan con bacteria del tipo "rope" no se encuentran frecuentemente y puede estar ausente durante muchos años. La contaminación por "rope" puede presentarse en el verano, cuando prevalecen las temperaturas elevadas y gran humedad ambiental.

4.2.1 Morfología:

Muchos biólogos opinan que las bacterias son plantas debido a su similitud con las algas azul-verdosas. Son organismos unicelulares. La rapidez de división de las bacterias es excesivamente alta; algunas llegan a la madurez y se dividen en 20 minutos bajo condiciones favorables (36). En condiciones artificiales de un cultivo puro, encontramos que el aumento y disminución de la población bacteriana sigue un curso definido. Podemos obtener una curva de crecimiento de cuatro fases:

a) Fase lenta:

Dura pocas horas. Mueren algunas bacterias sembradas, mientras que otras no están todavía en condiciones para la multiplicación. Se adaptan al nuevo medio, sintetizan enzimas, metabolizan activamente aunque todavía no se inició la división celular.

b) Fase de crecimiento logarítmica:

Los gérmenes se multiplican con una velocidad constante y máxima. Esta fase es corta debido a la disminución de las sustancias nutritivas disponibles, a la acumulación de productos de desecho, insuficiencia de oxígeno y otras causas perjudiciales no bien conocidas.

c) Fase estacionaria:

Los microorganismos son menos activos, se dividen con menos frecuencia y el número total de microorganismos vivos permanece prácticamente constante.

d) Fase regresiva:

Los gérmenes gradualmente dejan de multiplicarse y mueren con el tiempo (39).

Las bacterias son los organismos vivos más pequeños. Su tamaño promedio es de 0.5 micrones de diámetro por un micrón de longitud (en las formas cilíndricas). Sin embargo, algunas especies tienen longitudes de 200 a 500 micrones.

Los elementos básicos de la anatomía bacteriana comprenden: la pared celular y el citoplasma, rodeado de una membrana citoplasmática. Contiene varios gránulos y otras inclusiones celulares. Finalmente está el material nuclear, de importancia vital. Además, toda la bacteria puede estar envuelta por una vaina de material viscoso o gelatinoso, que forma más o menos una cápsula definida. Puede haber en la superficie órganos de locomoción llamados flagelos; algunos bacilos tienen pelos o vellocidades. Algunas bacterias pueden desarrollar esporas. Muchas bacterias forman colonias, de las cuales, las más comunes son las del tipo filamento.

Existen tres tipos de bacterias que se diferencian por su forma celular:

a) Cocos:

Son bacterias de célula redonda o esférica. En la tabla 4 se muestran las combinaciones en las que se presentan en la naturaleza.

TABLA 4. CLASIFICACION DE COCOS:

COCCOS	TERMINOLOGIA	FORMA
SIMPLE	COCCO	
PAR	DIPLOCOCCO	
CADENA	ESTREPTOCOCCO	
RACIMO	ESTAFILOCOCCO	
GRUPOS DE CUATRO	TETRADAS	
BLOQUES CUBICOS	SARCINAS	

(36.39).

b) Bacilos:

Son bacterias formadas por células en forma de bastón. Su agrupación se muestra en la tabla #5.:

TABLA 5. CLASIFICACION DE BACILOS:

BACILOS	TERMINOLOGIA	FORMA
SIMPLES	BACILO	
PAR	DIPLOBACILO	
CADENA	ESTREPTOBACILO	

c) Espirilos:

Son células en forma de espiral y pueden aparecer como: células de espiral corta y rígida, y de espiral larga y flexible. Muchas de ellas también son capaces de formar esporas.

Los bacilos se dividen en dos grandes grupos según su habilidad o incapacidad para formar esporas. Los bacilos que no forman esporas se llaman Bacterias (con letra inicial mayúscula para diferenciarla del nombre genérico de todo el grupo de microorganismos). Los organismos que forman esporas se nombran bacilos.

La formación de esporas en los bacilos no tiene nada que ver con la reproducción; es una forma de asumir un estado latente bajo ciertas condiciones. Para lograr una esterilización completa de las esporas, debe efectuarse una ebullición bajo presión, o aplicarse intensamente desinfectante en cada zona donde puedan estar presentes las bacterias.

La actividad bacteriana es responsable de la mayor parte de la descomposición en materia vegetal y animal. Son las enzimas bacterianas las que provocan la descomposición, ya que atacan a los carbohidratos, grasas y proteínas (38).

Su único medio de reproducción es la fisión o división celular simple.

El estudio detallado de la clasificación de las bacterias va más allá del objetivo de esta información, por tanto, solamente se hará mención de algunos grupos de bacterias importantes en la bacteriología de los alimentos. Las bacterias de interés en los alimentos a menudo se clasifican basándose en algunas propiedades que tienen en común, sin prestar atención a su ordenación sistemática. Algunas especies bacterianas podrán incluirse en uno o más de estos grupos artificiales. En la tabla se mencionan algunos grupos de bacterias.

TABLA 6. GRUPOS DE BACTERIAS IMPORTANTES EN ALIMENTOS.

.....
Bacterias Ácido Lácticas
Bacterias Ácido Acéticas
Bacterias Butíricas
Bacterias Propiónicas
Bacterias Proteolíticas
Bacterias Lipolíticas
Bacterias Sacarofílicas
Bacterias Intestinales
Bacterias Termófilas
Bacterias Psicrófilas
Bacterias Halófilas
Bacterias Osmófilas
.....

La alteración por bacterias puede atribuirse a dos causas: el alimento ingerido puede estar contaminado por bacterias vivas que provocan la enfermedad al hombre (infección), ó, los alimentos contienen toxinas elaboradas por las bacterias (intoxicación).

Salmonella y **Streptococcus fecalis** son los agentes más comunes en las infecciones por alimentos. El género *Salmonella* incluye 1200 especies identificadas que van desde los bacilos ordinarios del colon hasta los bacilos productores de tóxicos, muy peligrosos. Tienen forma de bastón, no forman esporas y son lábiles al calor, por lo que la mejor forma de erradicarlos de los alimentos es la pasteurización. En la panadería, los elementos que pueden ser fuente de *Salmonella* son huevos, leche, harina, harina de soya, levadura en polvo, y coco entre otros.

La infección del hombre por *Salmonella*, conocida como salmonelosis, puede provocar severos malestares gastrointestinales, o bien, puede no presentar síntomas, pero servir de foco de contaminación en los lugares de trabajo. Los síntomas incluyen: dolores abdominales, diarrea y, ocasionalmente, vómitos. El periodo de incubación varía entre 7 a 22 horas, siendo el promedio de 12 a 14 horas.

Los productos panaderos que han estado complicados en infecciones alimenticias por *Salmonella* han sido: productos con glaces de procesamiento en frío, rellenos de crema de mantequilla y rellenos sintéticos, merengues preparados con leche y huevos. En el producto en estudio, la *salmonella* que pudiera estar presente es destruída durante el horneo. Los focos más probables de infección son los empleados portadores de la infección y equipo contaminado, sobre todo en el que se procesan los rellenos.

La intoxicación o envenenamiento por alimentos más común es provocada por una toxina secretada por los estafilococos mientras crecen en los alimentos. Estas bacterias libres de toxinas son inofensivas. Los síntomas incluyen vómito, náuseas violentas, abatimiento y malestar general. El tiempo de incubación es de una hora. La enfermedad pocas veces es fatal y dura poco tiempo. Quizá los únicos productos de panificación involucrados en este tipo de envenenamiento sean los productos con rellenos de crema. La contaminación puede deberse a utensilios sucios, agua contaminada, etc. Los productos terminados deben refrigerarse, sin embargo, debe recordarse que si éstos están contaminados, las bacterias volverán a activarse cuando la temperatura de nuevo se eleva. La mejor solución sería pasteurizar los rellenos de crema (181°-218°C, 30'), y evitar la producción de pays con rellenos de crema durante los meses de verano.

4.2.2 Necesidades fisiológicas de las bacterias:

a) Necesidades hídricas:

En general, las bacterias requieren de más agua que las levaduras y los mohos. Es la cantidad de agua disponible y no la humedad total la que determina el límite mínimo para el crecimiento. La ausencia total de agua disponible impide el crecimiento, por lo que la conservación de alimentos por desecación es una aplicación muy conocida.

b) Temperatura:

Las bacterias poseen temperaturas de crecimiento máximas, mínimas y óptimas. El crecimiento bacteriano cesa durante la congelación, pero las bacterias pueden permanecer viables durante períodos prolongados. Para las células vegetativas, en la mayoría de los casos, la temperatura máxima de sobrevivencia es de 65.5°C, mientras que las esporas pueden destruirse efectivamente sólo calentando la sustancia que las contiene a 121°C bajo presión, durante 20 minutos. Esto explica porqué las esporas de bacterias tipo "rope" sobreviven al homeo.

Las temperaturas óptimas de crecimiento bacteriano varían ampliamente con las diferentes especies. Muchas bacterias presentes en el suelo, agua, aire o cuerpos animales, son mesófilas (crecen entre 25° y 40°C). Algunas bacterias del suelo y agua son psicrófilas (crecen bien a temperaturas ligeramente arriba del punto de congelación). Las bacterias termófilas crecen mejor a temperaturas entre 80° y 90°C. Crecen en el suelo o aguas termales (39,38).

c) Necesidades de pH y oxígeno:

Unas pocas bacterias, llamadas acidófilas, están adaptadas a una reacción ácida (pH 5.5 aproximadamente), como las ácido lácticas y las ácido acéticas (36), pero la mayoría es afectada desfavorablemente por un ácido y crece mejor en medio neutro (pH 7.0) o ligeramente alcalino (pH de 7.2 a 7.4). Hay algunos organismos que se multiplican mejor en un medio fuertemente alcalino con un pH hasta de 8.0 (39).

Respecto a las necesidades de oxígeno, existen bacterias en los tres medios: aeróbicas, facultativas y anaeróbicas, sin embargo, la mayoría de ellas son facultativas (34).

d) Presión osmótica:

Los medios con alta concentración de azúcar y sal no propiciarán el crecimiento bacteriano. La mayoría de las bacterias crecen bien en medios con una actividad acuosa próxima a la unidad (cuando la cantidad de sustancias disueltas es igual a las no disueltas), aunque existen excepciones notables.

e) Necesidades alimenticias:

Cada clase de bacterias tiene requerimientos alimenticios definidos. Algunas especies son poco exigentes, crecen sobre una gran variedad de sustratos; otras, entre ellas muchas patógenas, crecen solamente sobre ciertas sustancias. Algunas se desarrollan sobre carbohidratos, otras sobre ácidos orgánicos, alcoholes y ésteres. Ciertas bacterias se satisfacen con compuestos nitrogenados sencillos como amoníaco y con otras fuentes más complejas como aminoácidos.

f) Inhibidores:

Los productos originados por las bacterias durante su crecimiento, con el tiempo retardan o paralizan su desarrollo. Por ejemplo, cuando las bacterias descomponen azúcares, los ácidos producidos se acumulan a menudo a tal grado que detienen el crecimiento o producen la muerte de los organismos. Estos pueden ser inhibidores también para la multiplicación de otros microorganismos. Los alimentos naturales pueden contener compuestos que inhiben el crecimiento de las bacterias como el ya mencionado ácido benzoico de los arándanos.

4.2.3 Contaminación bacteriana en el pan:

Las bacterias que más comúnmente se presentan en el pan son:

a) Bacillus mesentericus:

El causante de la infección llamada "rope" en el pan es el Bacillus mesentericus, variante del Bacillus subtilis, que también se ha nombrado Bacillus panis por su alta incidencia en el pan.

"Rope" es una infección causada por bacterias, la cual muchas veces aparece en el pan, particularmente en medios húmedos o calientes. El pan infectado con "rope" tiene un olor similar al melón demasiado maduro. La parte interior del pan (migas) se decolora gradualmente y finalmente se hace pegajosa o gomosa. Generalmente aparece en el centro del pan y luego se disemina por todo el resto. A menudo el interior del pan se hace tan gomoso, que hilos muy delgados con apariencia sedosa se pueden ver cuando los dos pedazos de pan se separan cuidadosamente. Dichas hebras se forman cuando las bacterias secretan enzimas que degradan a las proteínas y al almidón del pan, y luego al combinarse con las células pegajosas que secreta la célula. Es esta característica la que le ha dado el nombre de "rope", que significa "cuerda" en inglés.

La contaminación es más común durante los meses húmedos del verano. Muchas veces los defectos aparecen hasta 24-48 horas después de hornearse el pan, ya cuando éste ha sido vendido al consumidor (36).

Puesto que los organismos del Bacillus mesentericus se presentan por naturaleza en el suelo, estas bacterias también pueden estar presentes en la parte superficial de granos y legumbres, y siendo tan pequeñas, pueden ser transportadas en el aire por partículas de polvo (32).

El defecto está favorecido por:

- Contaminación de la masa a partir de ingredientes.
- Contaminación de la masa a partir del equipo utilizado.
- Enfriamiento lento una vez que se ha horneado el pan. Lo que favorece la germinación rápida de las esporas y la multiplicación de las formas vegetativas.
- Falta de acidez. Un pH próximo a la neutralidad.
- Almacenamiento del pan en ambiente cálido y húmedo.

Algunos métodos que se pueden utilizar para evitarla son los siguientes:

- Utilización de ingredientes con contenido escaso o nulo de estos bacilos.
- Limpieza y saneamiento adecuado del equipo.
- Enfriamiento rápido de las piezas horneadas y empaquetado inmediato.
- Lograr, mediante el uso de acidificantes o proceso, un pH de 5 a 5.15 en el producto final.
- Adición de un inhibidor o inhibidores. En donde se haya observado "rope" y en clima caliente y húmedo, la cantidad normalmente utilizada de inhibidor debe ser aumentada a un nivel que por lo menos se aproxime a la cantidad máxima recomendada por el proveedor.
- Cuando el "rope" ha hecho su aparición es recomendable hacer la masa un poco más dura, usando un poco menos de agua.
- El horneado se debe llevar tan lejos como sea posible sin perjudicar la suavidad u otras cualidades esenciales. En general, un horno un poco menos caliente y un período un poco más largo, ayudará a este respecto.

Existen numerosos métodos para descubrir la presencia de esporas de Bacillus mesentericus en los ingredientes, uno de ellos es el conteo en placas de esporas de las especies mesófilas del género Bacillus, pasteurizando una suspensión de harina a 80°C durante 10 min. Se siembra para su estudio cuantitativo. El desarrollo se pone de manifiesto por una película blanco-grisácea en la superficie del caldo. Todas las cuentas no inferiores a 20 bacilos/g se consideran excesivas. El "rope" también puede aparecer en productos de masas dulces y pasteles.

La infección causada por Bacillus mesentericus, en estado avanzado es fácilmente detectable de la siguiente manera:

- Seleccionar al azar de tres a cuatro panes en la producción de cada día.
- Colocar estos panes bajo condiciones húmedas y calientes (26° a 27° L_2° C y 80-90% de humedad relativa).

Si se desea, empaque el pan en bolsas que ofrezcan protección contra la humedad (una bolsa de polietileno sería satisfactoria).

- Las muestras se deben de observar muy cuidadosamente en los siguientes intervalos después del horneado:

- 12 a 48 horas
- 24 horas
- 48 horas
- 72 horas

Si el olor o la apariencia de cualquiera de estas muestras indica desarrollo de esporas de "rope", inmediatamente se deben tomar las siguientes medidas para remediar la situación: todo el equipo, las paredes y el piso, deben lavarse completamente con el uso de vapor (a 100 lbs de presión y a 170° C), vinagre diluido o soluciones germicidas. Se recomienda atomizar un desinfectante en las paredes, cámaras de vapor, artesas, mezcladoras, utensilios, etc. Se deben emplear compuestos cuaternarios de amonio, que son germicidas muy efectivos.

b) Serratia marcescens:

La coloración roja o sanguinolenta del pan es tan poco frecuente como alarmante. Se debe a una bacteria, Serratia marcescens, organismo que en muy raras ocasiones provoca la aparición de manchas rojas en el pan. El microorganismo causante es un coco pequeño de poca resistencia al calor, que no soportará las temperaturas de horneado. La contaminación toma lugar después del horneo. Puede proceder el crecimiento hasta la etapa donde se produce un goteo, debido a la digestión del pan por las enzimas de la bacteria. Esta contaminación es menos común que la del "rope" y se erradica mediante una limpieza y desinfección de la planta (36,37).

V.- METODOLOGÍA:

5.1 Selección de fórmula:

Debido a la primordial importancia que representa el eliminar todas las variables que pudieran interferir para asegurar confiabilidad en los resultados del estudio, el primer paso a seguir fue el ensayo con varias formulaciones hasta seleccionar la que a continuación se muestra. Dicha fórmula presentó mayor estabilidad, obteniéndose con ella un producto uniforme, de buen aspecto y sabor.

FÓRMULA

Leche en polvo	1.50%
Azúcar refinada	22.8%
Sal	0.60%
Harina	30.0%
Agua	18.0%
Polvo de hornear	0.99%
Aceite	2.99%
Manteca	2.99%
Saborizante	0.03%
Huevos	18.3%

Se elaboraron 20 panqués por prueba. Los ingredientes se mantuvieron constantes, así como el tiempo de horneado (20 min) y la temperatura (200°C). El material y equipo, que abajo se muestra, recibió siempre el mismo saneamiento. El lugar de almacenamiento no varió (excepto para la prueba en cámara húmeda), con lo que la humedad relativa de almacenamiento se eliminó como variable al mantenerse ésta en 23%, al igual que la temperatura a 20° C. Una vez elaborado el producto, se envolvió con polipropileno para la prueba de vida de anaquel.

Los factores en consideración para la selección de los conservadores con los que se realizaron los ensayos fueron los siguientes:

- 1.- Los conservadores mayormente empleados en panificación.
- 2.- Que presentaran propiedades antimicrobianas dentro del rango de pH del producto.
- 3.- Debido a que el producto requiere cocción, debieron ser termoestables.
- 4.- El ser relativamente económicos. Se descartaron aquellos que requirieran ser importados.
- 5.- El que por lo menos uno de ellos presentara diferente espectro de acción para intentar intensificar la acción antimicrobiana mediante los combinados.

Los espectros de acción que presentan son:

BENZOATO DE SÓDIO	LEVADURAS Y MOHOS
PROPIONATO DE SÓDIO	MOHOS Y BACTERIAS (principalmente la bacteria tipo "roque")
ACIDO SORBICO	LEVADURAS Y MOHOS
SORBATO DE POTASIO	LEVADURAS Y MOHOS

7.- Por último, se consideró el que los conservadores seleccionados presentarían diferentes modos de acción contra los microorganismos:

BENZOATO DE SÓDIO	BLOQUEO ENZIMÁTICO Y ATAQUE A LA PARED CELULAR
PROPIONATO DE SÓDIO	BLOQUEO ENZIMÁTICO E INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO POR COMPETENCIA CON EL SUSTRATO
ACIDO SORBICO	BLOQUEO ENZIMÁTICO
SORBATO DE POTASIO	BLOQUEO ENZIMÁTICO

Con ésto se pretende también el que exista un refuerzo en el modo de acción al establecerse los combinados.

Para elegir las cantidades de conservador con las que se debía ensayar, se consultaron las tablas de niveles sugeridos en panificación en el boletín técnico "Panquelería, Métodos de elaboración de masas" de la Dirección Corporativa Impulsora, el cual, basado en anteriores estudios, propone dos niveles: un nivel máximo y uno mínimo. Para los propósitos de este estudio, y como ahondamiento, se estableció un tercer nivel, al cual denominamos nivel medio. Dichas cantidades se especifican a continuación, observándose también que no sobrepasan los niveles permitidos por el "Code of Federal Regulations".

.....
TABLA 7. NIVELES APLICADOS DE CONSERVADOR:

	NIVELES SUGERIDOS (g/kg de batido)	NIVELES APLICADOS (g/kg de batido)	NIVELES PERMITIDOS (g/kg de batido)
AC. PROPIONICO Y SUS SALES	2.5-3.2	MINIMO: 2.5 MEDIO: 2.8 MAXIMO: 3.2	3.2
AC. SORBICO Y SUS SALES	0.78-0.94	MINIMO: 0.78 MEDIO: 0.85 MAXIMO: 0.94	sin limitación
AC. BENZOICO Y SUS SALES	0.25-1.0	MINIMO: 0.25 MEDIO: 0.82 MAXIMO: 1.0	1.0

.....
 NOTA: En México aún no existen regulaciones para las concentraciones de empleo de estos conservadores en panadería, por lo que se recurrió al "Code of Federal Regulations".

5.2 Material y Equipo

Balanza Analítica
Báscula
Horno
Sellador (para envolturas)
Batidora
Moldes

5.3 Procedimiento

5.3.1 Vida de Anaquel.

a) En condiciones normales.

1.- Conservadores puros. El primer paso lo constituirá una visión general de la vida de anaquel que presenten los conservadores en estudio puros, en los tres niveles establecidos, mínimo, medio y máximo, y su eficiencia mediante la comparación con un testigo. En adición, se ensayará con el 50% de los niveles medios, ya que se necesitarán estos resultados como comparativos para el paso #3. Se considerará como vida de anaquel desde el día de preparación, hasta el día en que se presentó el primer hongo en cualquiera de las 20 muestras, o algún indicio de Bacillus mesentericus, para lo cual, cada 5 días se examinará el interior de una muestra al azar, observándose que no presente formación de "hilos" al separar sus partes. Estas mismas pruebas se llevarán a cabo durante todas las etapas de la vida de anaquel.

2.- Combinados. Se basó en los niveles medios, se elaborarán todas las combinaciones posibles entre los conservadores en estudio. Se establecerá el efecto que presentan dichos combinados y la diferencia en días ganados al aprovecharse el efecto sinérgico.

3.- Disminución de dosis. Se disminuirán al 50% las concentraciones de los niveles medios, elaborando igualmente todas las combinaciones posibles. Se determinará que combinados conservan sus propiedades sinérgicas al disminuir su dosis, y cuál de ellos presenta mayor diferencia en días comparando los datos obtenidos al ensayar con el 50% de niveles medios de conservadores puros.

4.- Proporciones. Basados en la mayor diferencia en días ganados, se seleccionará al mejor combinado, y partiendo de la concentración disminuida al 50%, se ensayarán con él diferentes proporciones, y se establecerá la más conveniente a nuestro objetivo.

5.- Disminución de dosis. Una vez establecida la proporción del combinado que más convenga a nuestros propósitos, se disminuirán las concentraciones sin alterar dicha proporción, para encontrar por interpolación la mínima dosificación requerida para que el producto perdure 10 días, los cuales constituyen la vida de anaquel comercial del producto. Estas serán las muestras de los resultados finales, y sobre ellas se aplicarán las pruebas microbiológicas, sensoriales y bromatológicas.

b) Vida de Anaquel en cámara húmeda.

Las condiciones de elaboración y de almacenamiento en las que se llevarán a cabo los ensayos se pueden considerar ideales, por lo que los resultados anteriormente obtenidos solamente tendrán aplicación práctica en condiciones semejantes. Para producción en la temporada de verano, o para productos que sean destinados a costas, resultados obtenidos por almacenamiento en cámara húmeda podrán concordar mejor con la vida de anaquel que se presentará bajo esas condiciones. Bajo este planteamiento, se proseguirá a repetir el paso anterior, almacenando el producto en cámara húmeda (30°C, 90% de humedad relativa).

5.3.2 Pruebas Microbiológicas.

Sobre las muestras de los resultados finales en condiciones normales y en cámara húmeda, se realizará una observación al microscopio para la identificación de microorganismos.

Para un análisis de "rope" se examinará el interior de las muestras finales con los siguientes intervalos: 12, 24, 48 y 72 horas. Se verificará el que no se presente formación de hilos al separar sus partes y que no presente olor característico.

5.3.3 Pruebas Sensoriales.

Sobre las muestras finales, se llevará a cabo una prueba de aceptación (acepto/rechazo) al consumidor al décimo día de su elaboración. Se cuestionará a 15 consumidores, los cuales evaluarán panqués con diferentes concentraciones de conservadores, determinando si el producto es aceptable o si se lo rechaza.

5.3.4 Pruebas Bromatológicas.

Se llevarán a cabo las siguientes pruebas bromatológicas:

a) Humedad %. Método del AOAC 14.121 (42).

El agua existe en los alimentos en dos formas: libre y ligada. El agua libre, que es la forma predominante, se libera con gran facilidad, y es la estimada en la mayor parte de los métodos usados para el cálculo. El agua ligada se haya combinada o absorbida. Se encuentra en los alimentos como agua de cristalización (en los hidratos) o ligada a las proteínas y a las moléculas de sacáridos, y absorbidas sobre la superficie de las partículas coloidales. Estas formas requieren para su eliminación en forma de vapor, calentamiento de distinta intensidad. Así pues, al hablar de porcentaje de agua o humedad, debe indicarse el método (41).

b) Proteínas (N x 6,25)%. Método del AOAC 14.123 (42).

El método de Kjeldahl se basa en la oxidación de la muestra con ácido sulfúrico concentrado caliente, con lo que el nitrógeno enlazado se convierte al ión amonio. La solución se trata con un exceso de base fuerte. Siguiendo a una destilación y por medio de una titulación, se determina el amonio liberado (43).

c) Grasa %. Método del AOAC 14.019 (42).

El término extracto étereo se refiere al conjunto de las sustancias extraídas con éter etílico. Incluye, además de los ésteres de los ácidos grasos como el glicerol, a los fosfolípidos, las lecitinas, los esteroides, las ceras, los ácidos grasos libres, los carotenoides, la clorofila y otros pigmentos. La determinación se lleva a cabo sobre muestras deshidratadas en la estufa. Hay extractores continuos como el Underwrite ó intermitentes, como el Soxhlet (41).

d) Cenizas %. Método del AOAC 14.122 (42).

Se requiere calentar la muestra con un potente agente reductor para romper los enlaces covalentes en el compuesto y así poder determinar el elemento libre por sus residuos carbonizados (43).

e) Fibra Cruda %. Método del AOAC 14.125 (42).

Es la pérdida de peso, por calcinación, del residuo seco que se obtiene de la digestión con ácido sulfúrico e hidróxido de sodio de una muestra desengrasada bajo condiciones específicas. Constituye un índice de las sustancias presentes en los alimentos de origen vegetal cuyo valor alimenticio es cero. Está formada principalmente por celulosa, lignina y pentosana, que constituyen, junto con pequeñas cantidades de sustancias nitrogenadas, las estructuras celulares de los vegetales.

f) pH (al 10%).

g) Carbohidratos.

También llamados carbohidratos por diferencia o sustancias extractivas no nitrogenadas. Se determina restando de 100 la suma del porcentaje de humedad, proteínas, grasa, fibra cruda y cenizas (42).

VI.- RESULTADOS:

6.1 Vida de Anaquel

a) En condiciones normales.

1.- Conservadores puros. Los resultados de la vida de anaquel para los tres niveles, mínimo, medio y máximo, y para las muestras testigo se muestran en la tabla 8.

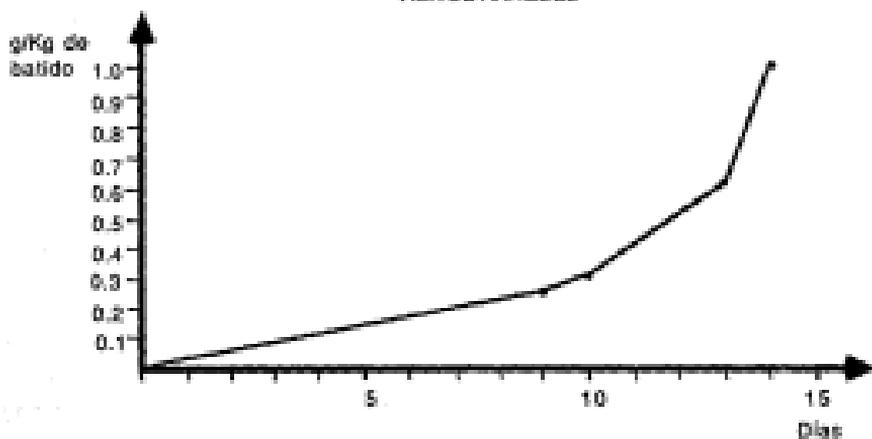
TABLA 8. VIDA DE ANAQUEL DE CONSERVADORES Puros.

	<u>CONSERVADORES</u> (Nivel)	<u>CONCENTRACION</u> <u>VIDA DE</u> <u>ANAQUEL</u> (Días)	<u>EFICIENCIA CON</u> <u>RELACION AL</u> <u>TESTIGO</u> (Días)
BENZOATO DE SODIO	MINIMO	9	2
	MEDIO	13	6
	MAXIMO	14	7
	MEDIO AL 50%	10	3
SORBATO DE POTASIO	MINIMO	10	3
	MEDIO	15	8
	MAXIMO	17	10
	MEDIO AL 50%	6	-
PROPIONATO DE SODIO	MINIMO	15	8
	MEDIO	16	9
	MAXIMO	20	13
	MEDIO AL 50%	8	1
ACIDO SORBICO	MINIMO	21	14
	MEDIO	23	16
	MAXIMO	27	20
	MEDIO AL 50%	13	6

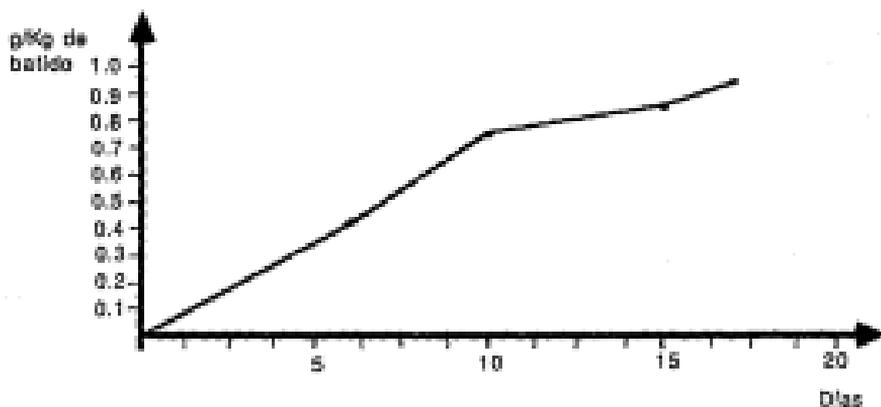
TESTIGO: 7 días.

(ver gráfica #1 a #4)

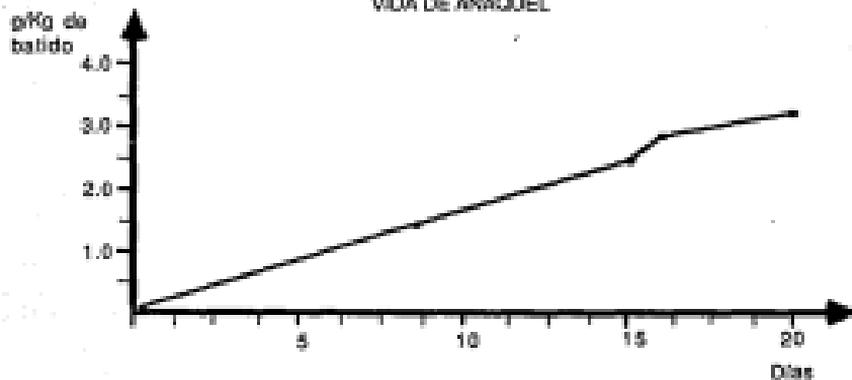
GRAFICA #1
BENZOATO DE SODIO
VIDA DE ANAQUEL



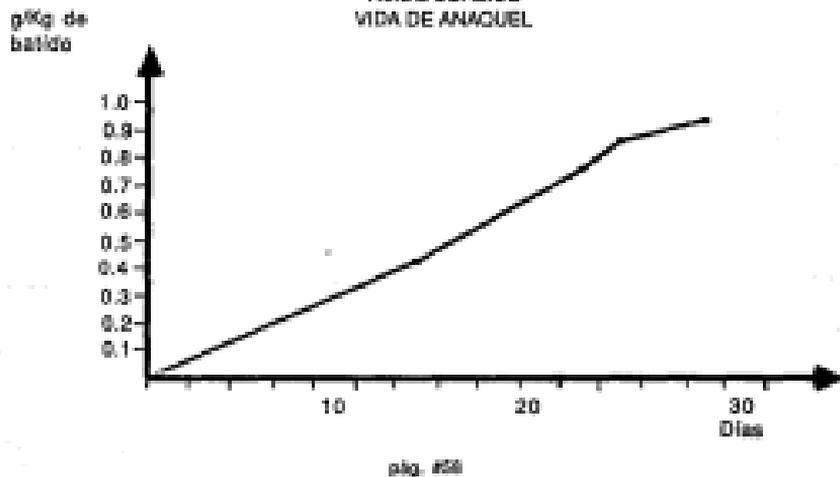
GRAFICA #2
SORBATO DE POTASIO
VIDA DE ANAQUEL



GRAFICA # 3
PROPIONATO DE SODIO
VIDA DE ANAQUEL



GRAFICA # 4
ACIDO SOBIBICO
VIDA DE ANAQUEL



2.- Combinados. En la tabla 9 se muestran los resultados obtenidos al mezclar los niveles medios de los conservadores formando combinados. Se establece el efecto que causan al mezclarse y la diferencia en días de los resultados esperados para el efecto de adición.

TABLA 9. VIDA DE ANAGUEL PARA COMBINADOS.

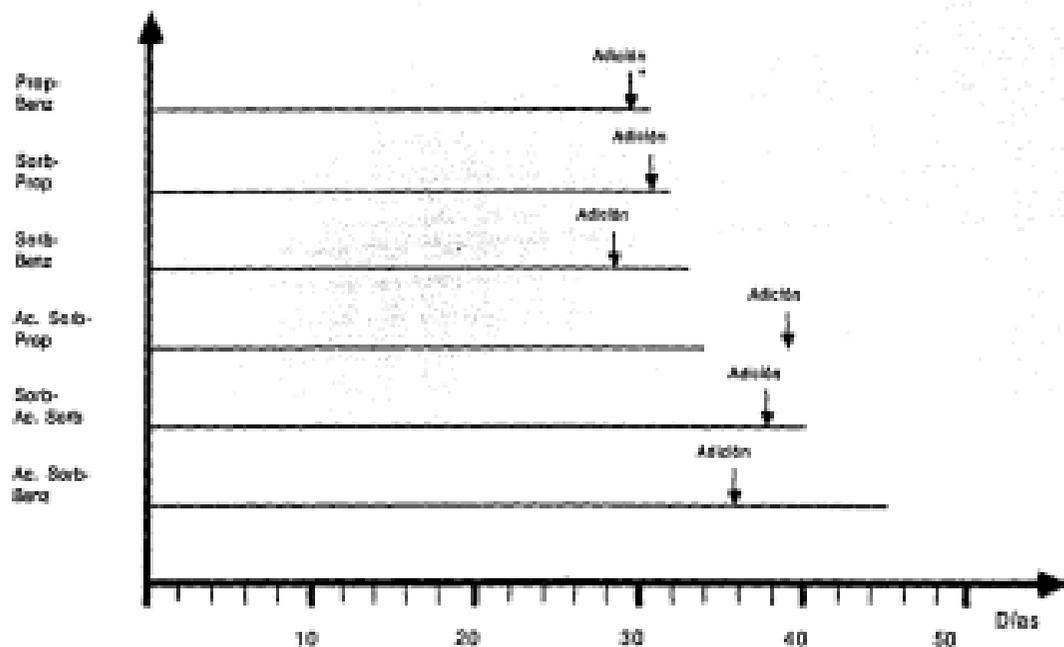
<u>COMBINADO</u>	<u>RESULTADO</u> (Días)	<u>RESULTADO</u> <u>CONSIDERADO</u> <u>ADICION</u> (Días)	<u>ACCION</u> <u>QUE</u> <u>CAUSAN</u> <u>AL</u> <u>MEZCLARSE</u>	<u>DIFFERENCIA</u> <u>EN</u> <u>DIAS</u>
PROPIONATO DE SODIO- BENZOATO DE SODIO	31	13+16=29	sinergismo	+2
SORBATO DE POTASIO- PROPIONATO DE SODIO	32	15+16=31	sinergismo	+1
SORBATO DE POTASIO- BENZOATO DE SODIO	33	15+13=28	sinergismo	+5
ACIDO SORBICO- PROPIONATO DE SODIO	34	23+16=39	antagonismo	-5
SORBATO DE POTASIO- ACIDO SORBICO	40	15+23=38	sinergismo	+2
ACIDO SORBICO- BENZOATO DE SODIO	45	23+13=36	sinergismo	+9

(ver gráfica #5)

El combinado ácido sórbico-propionato de sodio causa antagonismo. Al no presentar interés práctico, se elimina de los ensayos subsiguientes.

GRAFICA # 5
VIDA DE ANQUEL PARA COMBINADOS

Combinado



* La flecha indica el resultado considerado como efecto de adición para cada combinado. A partir de ella, se representan los días ganados por efecto sinérgico.

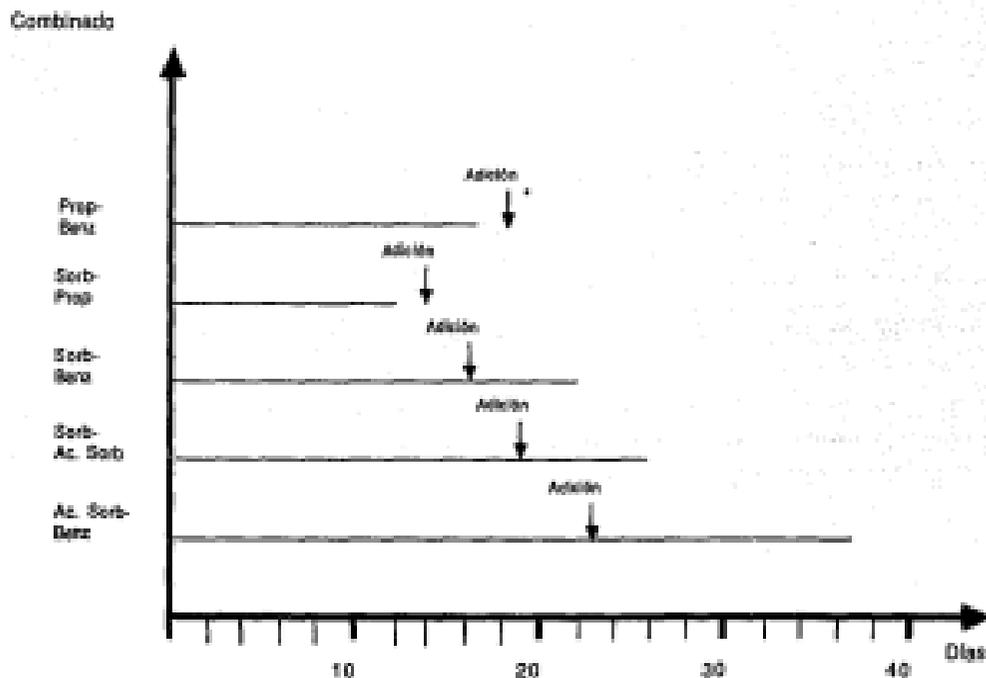
3.- Disminución de dosis. Al reducirse las dosis a un 50% se observaron los resultados anotados en la tabla 10.

TABLA 10. VIDA DE ANAQUEL DE COMBINADOS CON DOSIS REDUCIDAS AL 50%.

<u>COMBINADOS</u>	<u>RESULTADO</u> (Días)	<u>RESULTADO</u> <u>CONSIDERADO</u> <u>ADICION</u> (Días)	<u>ACCION</u> <u>QUE</u> <u>CAUSAN</u> <u>AL</u> <u>MEZCLARSE</u>	<u>DIFERENCIA</u> <u>EN DIAS</u>
PROPIONATO DE SODIO- BENZOATO DE SODIO	17	8+10=18	antagonismo	-1
SORBATO DE POTASIO- PROPIONATO DE SODIO	13	6+8=14	antagonismo	-1
SORBATO DE POTASIO- BENZOATO DE SODIO	23	6+10=16	sinergismo	+7
SORBATO DE POTASIO- ACIDO SORBICO	26	6+13=19	sinergismo	+7
ACIDO SORBICO- BENZOATO DE SODIO	37	13+10=23	sinergismo	+14

(ver gráfica #5)

GRAFICA # 6
VIDA DE ANAQUEL DE COMBINADOS
CON DOSIS REDUCIDAS AL 50%



*La fecha indica el resultado considerado como efecto de adición para cada combinado. A partir de ella, se representan los días ganados por efecto sinérgico.

4.- Proporciones. Al observarse una clara ventaja del combinado de ácido sórbico-benzoato de sodio sobre los demás combinados, se prosiguió a ensayar diferentes proporciones del mismo, y los resultados se muestran en la tabla 11.

TABLA 11. DIFERENTES PROPORCIONES DEL COMBINADO ACIDO SORBICO-BENZOATO DE SODIO.

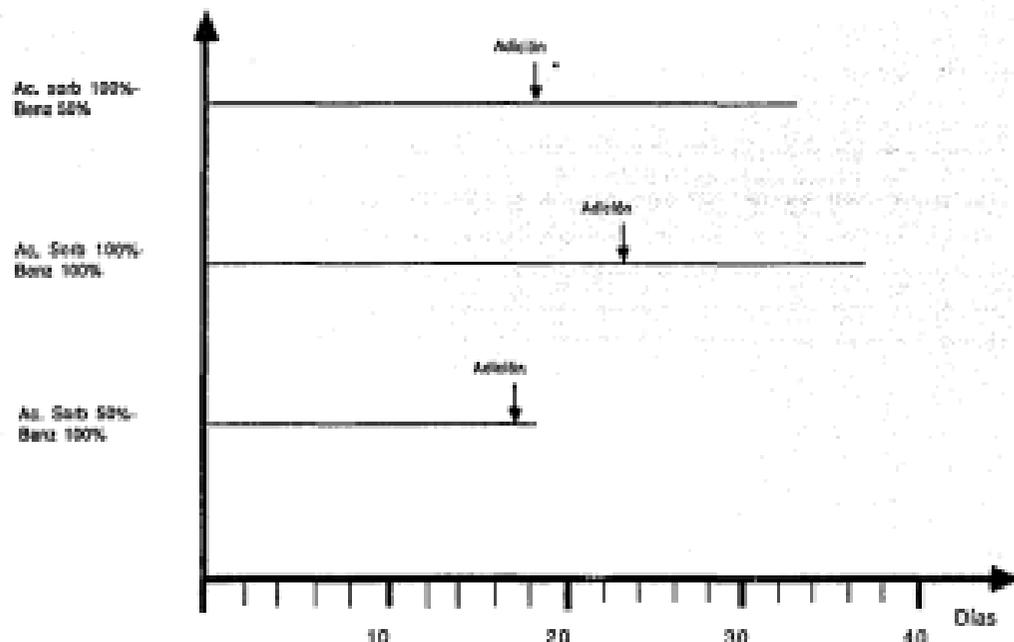
<u>COMBINADO</u>	<u>RESULTADO</u> (Días)	<u>RESULTADO</u> <u>CONSIDERADO</u> <u>ADICION</u> (Días)	<u>ACCION</u> <u>QUE</u> <u>CAUSAN</u> <u>AL</u> <u>MEZCLARSE</u>	<u>DIFERENCIA</u> <u>EN DIAS</u>
AC. SORBICO 100%- BENZ. DE SODIO 50%	33	13+5=18	sinergismo	+15
AC. SORBICO 100%- BENZ. DE SODIO 100%	37	13+10=23	sinergismo	+14
AC. SORBICO 50%- BENZ. DE SODIO 100%	18	7+10=17	sinergismo	+1

(ver gráfica #7)

A pesar de que la proporción 100-100% presentó más larga vida de anaquel, la diferencia no es considerable en comparación con la proporción 100-50%, que, además de requerir menor dosis de benzoato de sodio, presentó una mayor diferencia en días. Sobre esta base se establece la proporción 100-50% como la más ventajosa.

GRAFICA # 7
DIFERENTES PROPORCIONES DEL COMBINADO
ACIDO SIEMICO-BENZATO DE SODIO

Combinado



*La flecha indica el resultado considerado como efecto de adición para cada combinado. A partir de ella, se representan los días ganados por efecto sinérgico.

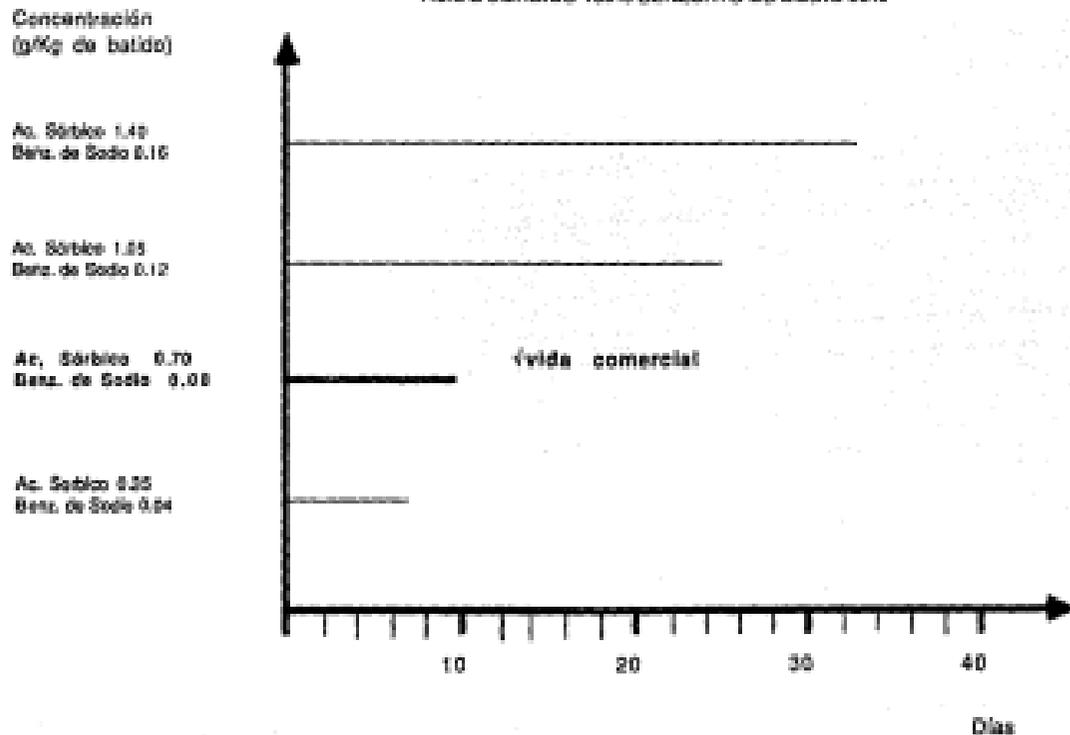
5.- Disminución de dosis. Seleccionado el combinado ácido sórbico 100%-benzoato de sodio 50%, se prosiguió a la disminución de dosis para obtener la cantidad mínima necesaria para lograr la vida comercial del producto (10 días). Los resultados se anotan en la tabla 12.

TABLA 12. DISMINUCION DE DOSIS DE EL COMBINADO ACIDO SORBICO 100%-BENZOATO DE SODIO 50%.

<u>CONSERVADOR</u>	<u>CONCENTRACION</u> (g/Kg de caldo)	<u>RESULTADO</u> (Días)	
ACIDO SORBICO- BENZOATO DE SODIO	1.40 0.16	33	
ACIDO SORBICO- BENZOATO DE SODIO	1.05 0.12	25	
ACIDO SORBICO- BENZOATO DE SODIO	0.70 0.08	10	✓ vida comercial
ACIDO SORBICO- BENZOATO DE SODIO	0.35 0.04	7	

(ver gráfica #8)

GRAFICA # 8
 DISMINUCION DE DOSES DEL COMBINADO
 ACIDO SORBICO 100%-BENZOATO DE SODIO 50%



b) Vida de Anaquel en Cámara Húmeda. Los resultados obtenidos al almacenar las muestras con diferentes dosis del combinado ac. sórbico 100%-benzoato de sodio 50% en cámara húmeda se muestran en la tabla 13.

TABLA 13. VIDA DE ANAQUEL EN CAMARA HUMEDA.

<u>CONSERVADOR</u>	<u>CONCENTRACION</u> (g/Kg de batido)	<u>RESULTADO</u> (Días)
ACIDO SORBICO- BENZOATO DE SODIO	1.40 0.16	12
	1.25 0.14	√ (10 días) vida comercial
ACIDO SORBICO- BENZOATO DE SODIO	1.05 0.12	8
ACIDO SORBICO- BENZOATO DE SODIO	0.70 0.08	5
ACIDO SORBICO- BENZOATO DE SODIO	0.35 0.04	2

(ver gráfica #8).

GRAFICA # 9
VIDA DE ANAQUEL
EN CAMARA HUMEDA

Concentración
(g/Kg de caldo)

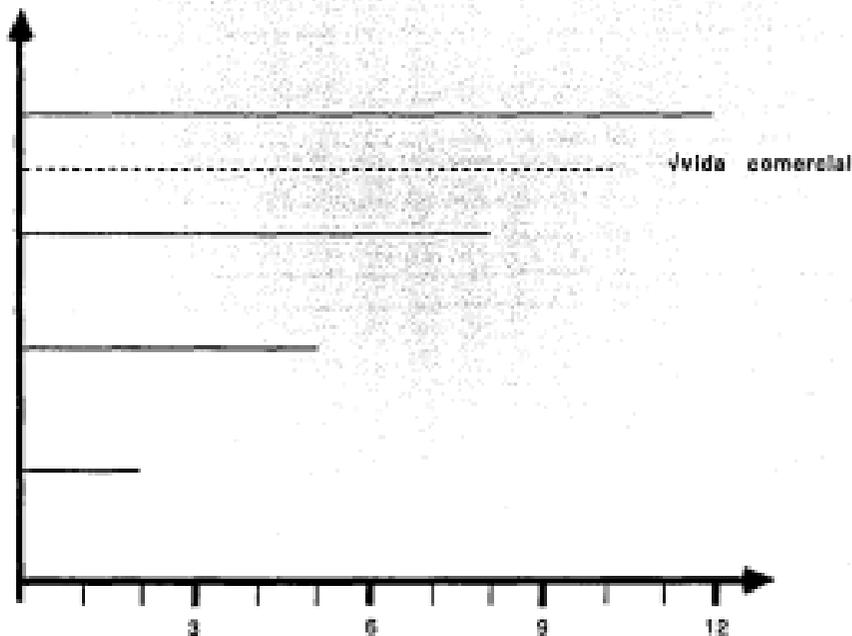
Ac. Sábico 1,40
Benz. de Sodio 0,18

Ac. Sábico 1,25
Benz. de Sodio 0,14

Ac. Sábico 1,05
Benz. de Sodio 0,12

Ac. Sábico 0,70
Benz. de Sodio 0,08

Ac. Sábico 0,35
Benz. de Sodio 0,04



Vida comercial

6.2 Pruebas Microbiológicas.

Por medio de una observación al microscopio de los hongos causantes del deterioro , se observó lo siguiente:

-No se presentó ningún caso de Bacillus mesentericus o bacteria tipo "rope".

-Las especies de hongos que causaron el deterioro se identificaron como las que siguen:

Aspergillus glaucus con un porcentaje de incidencia de 68%.

Endomices fibuliger con una incidencia de 38%

6.3 Pruebas Sensoriales.

Los resultados de la prueba de aceptación al consumidor se llevó a cabo con las muestras finales que se anotan a continuación:

Acido Sábico 1.40 g/Kg de batido-Benzoato de Sodio 0.16 g/Kg de batido
ACEPTACION: 100%

Acido Sábico 1.25 g/Kg de batido-Benzoato de Sodio 0.14 g/Kg de batido
ACEPTACION: 100%

Acido Sábico 1.05 g/Kg de batido-Benzoato de Sodio 0.12 g/Kg de batido
ACEPTACION: 100%

Acido Sábico 0.70 g/Kg de batido-Benzoato de Sodio 0.08 g/Kg de batido
ACEPTACION: 100%

Acido Sábico 0.35 g/Kg de batido-Benzoato de Sodio 0.04 g/Kg de batido
ACEPTACION: 100%

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

6.4 Pruebas Bromatológicas

HUMEDAD %	22.2
PROTEINAS % (Nx6.25)	7.0
GRASA %	15.0
CENIZAS %	1.5
FIBRA CRUDA %	0.3
pH (al 10%)	6.8
CARBOHIDRATOS %	54.0

La muestra que contiene ácido sórbico 0.85 g/Kg de bafido-benzoato de sodio 0.31 g/Kg de bafido, muestra un decremento de pH a 6.3, el cual no es significativo.

VII.- CONCLUSIONES:

Considerando las pruebas de vida de anaquel efectuadas a los pasteles tipo panqué, se establece que el combinado que presenta mejores características sinérgicas es el de Acido Sórico-Benzoato de Sodio en una proporción de 100-50% con respecto a los valores del nivel medio.

De acuerdo a los resultados obtenidos, las cantidades adecuadas de dichos conservadores que se deben de aplicar para la vida comercial del producto, que es de 10 días, son: Acido Sórico 0.70 g/Kg de batido-Benzoato de Sodio 0.08 g/Kg de batido; lo cual, sumado, corresponde al 31% de la cantidad total de conservador empleada con mayor frecuencia actualmente (0.8 g de ac. sórbico, 1.8 g de propionato de sodio).

Es recomendable que se consideren los resultados de cámara húmeda como los más apropiados para producto destinado a la costa o para el producido en verano. Las cantidades establecidas igualmente para una vida comercial de 10 días son: Acido Sórico 1.25 g/Kg de batido-Benzoato de Sodio 0.14 g/Kg de batido. Esta cantidad corresponde al 43% de la cantidad empleada normalmente para el producto destinado a la costa o en verano (1.2 g de ac. sórbico, 2.6 g de propionato de sodio).

Las pruebas sensoriales demuestran una aceptación del 100% por parte del consumidor, lo cual indica que la cantidad empleada de conservadores no altera significativamente el sabor u olor del producto.

Aunque el Acido Sórico tiene un precio elevado (\$14,734.⁰⁰ por Kg¹), la dosis empleada es muy pequeña y su actividad sumamente efectiva para el producto en estudio. Es el conservador común en los dos combinados mencionados anteriormente, y en el combinado propuesto se reduce su cantidad. El Propionato de Sodio (\$2,377.⁰⁰ por Kg¹), tiene un costo muy similar al del Benzoato de Sodio (\$2,500.⁰⁰ por Kg¹), por el que se lo pretende reemplazar. Igualmente, al reducirse la cantidad a emplear, se reduce el costo. Así tenemos que:

- Para condiciones normales, el costo aproximado de conservadores por cada 1000 Kg. de batido de la mezcla actualmente empleada es \$13,356.⁰⁰.
- Con la mezcla propuesta, dicho costo se reduce a \$10,513.⁰⁰.
- Para condiciones extremas, el costo de conservadores empleados actualmente por 1000 Kg. de batido es de \$22,434.⁰⁰.
- Con el combinado propuesto el costo se reduce a \$18,767.⁰⁰.

¹ Precios vigentes en marzo de 1983.

Como se puede observar, con el combinado propuesto también el factor económico se ve favorecido.

Ya que al hablar de mejor combinado solo se puede afirmar en cuanto al producto específico en estudio, queda un reto a seguir ensayándose con más combinados de conservadores y con diferentes productos, para utilizar las características sinérgicas que se presenten y recurrir así a un mínimo de dosificación adecuada para el bienestar físico y económico de la población mexicana.

VIII.- DISCUSION DE RESULTADOS:

Los resultados mencionados exponen algunos puntos:

El Benzoato de Sodio es un conservador del que se esperaba poca o nula efectividad, ya que su pH de acción se limita a 4.5 como máximo, y el panqué presenta un pH de 6.3. De hecho, su empleo en pastelería se limita a rellenos de fruta, mermeladas, jaleas y goles. Sin embargo, mediante este estudio se comprobó que su combinado con el Acido Sórico demuestra mayor efecto sinérgico que el de éste último con conservadores más afines a las características de panqué.

Esto podría tener relación con la intensificación del modo de acción que presentan por separado: el Acido Sórico produce un bloqueo enzimático y el Benzoato de Sodio además de bloquear procesos enzimáticos ataca a la pared celular. Existe también la posibilidad de que el combinado presente una acción diferente de la acción que presenta cualquiera de las sustancias que lo integran.

Hay que tener en cuenta que el que no se haya presentado evidencia de Bacillus mesentericus, no puede garantizarnos que el combinado lo haya inhibido o aniquilado. Pudo simplemente no estar presente. Al no tenerse información de que alguno de los dos conservadores que forman el combinado ataquen al "rope", sería recomendable en un caso de infección de este tipo, aplicar temporalmente Propionato de Sodio, ya que se ha comprobado que es efectivo contra esta bacteria. Sin embargo, no debe cometerse el error de combinar Propionato de Sodio con Acido Sórico, la mezcla que en la actualidad se utiliza mayormente para pastales tipo panqué, ya que este estudio demuestra su efecto antagónico.

Ya que el Acido Sórico presenta inocuidad fisiológica e indiferencia sensorial, la reducción de la cantidad a emplearse proporcionará ventajas primordialmente económicas. No así el Acido Benzoico, cuya disminución traerá beneficios fisiológicos al consumidor y a la calidad del producto, ya que presenta desventajas desde el punto de vista toxicológico y sensorial.

IX. BIBLIOGRAFIA:

- 1) Luck, E. "Conservación Química de los Alimentos".
Ed. Acribia. España, 1981.
p. 25-59, 136-148, 157-162.
- 2) Lee, L. y Miner, L. "Food Service Science".
Avt Publishing Co, U.S.A., 1974.
- 3) Pyler, E.J. "Baking Science and Technology", Vol I y II.
Siebel Publishing Co. U.S.A., 1973.
- 4) Pomeranz, Y. "Advances in Cereal Science and Technology".
American Association of Cereal Chemists, Inc. U.S.A., 1981.
- 5) Garduño, A.T. "Desarrollo de Alimentos".
Dirección General de Derecho de Autor. México, 1978.
p. 147-153.
- 6) Furia, T.E. "Handbook of Food Additives". 2a. Ed. Vol II.
C.R.C. Press Inc. U.S.A., 1972.
p. 116-141, 171-177.
- 7) Hart, L.F. y Johnstone, H.F. "Análisis Moderno de los Alimentos".
Ed. Acribia. España, 1971.
p. 372-379.
- 8) Desrosier, N.W. "The Technology of Food Preservation". 3a. Ed.
Avt. Publishing Co. U.S.A., 1980.
p. 279-310.
- 9) Tilbury, R.H. "Developments in Food Preservatives".
Applied Science Publishers. London, 1980.
p.104, 124, 530.
- 10) Pintauro, N.D. "Food Additives to Extend Shelf Life".
Food Technology Review No. 17.
Noyes Data Co. England, 1974.
p.185-187.
- 11) Secharow, S. "A Packaging Primer".

- 12) Kelsey, R.J. "Packaging in Today's Society".
Regis Paper Co. U.S.A., 1978.
- 13) Kramer, A. y Twigg, B.A. "Quality Control for Food Industry".
3a. Ed. Vol I.
Avi Publishing Co. U.S.A., 1970.
- 14) Gutrie, R.S. "Food Sanitation".
Avi Publishing Inc. U.S.A., 1972.
- 15) "Guía de la Industria Química". Productos Químicos.
Colección 75. 12a. Ed. Publicaciones Cosmos.
México, 1975.
- 16) "Code of Federal Regulations". Food and Drugs.
Parts 166 to 169 and 170 to 199. Published by the Office of
the Federal Register National Archives and Records Service.
General Services Administration. U.S.A., 1963.
p. 257 y 360.
- 17) "Ingredientes en Pastelería". Ciencia de la Panificación.
American Institute of Baking. Lección 27. U.S.A., 1981.
p. 3-16.
- 18) "Variedad de Pastales". Ciencia de la Panificación.
American Institute of Baking. Lección 28. U.S.A., 1981.
- 19) "Delvoció, Prevención de Hongos en Productos Alimenticios".
Gisi y Brocades. Product Bulletin.
Industrial Enzymes Division. Holland, 1984.
p. 4-11.
- 20) "Panquelería. Métodos de Elaboración de Masas".
Boletín Técnico. Departamento de Producción.
Bimbo Az. México, 1975.
- 21) "La Conservación de los Alimentos con Acido Sórico Hoechst".
Product Bulletin. México, 1984.
- 22) "The Safety of Foods". An International Symposium on the
Safety and Importance of Food in the Western Hemisphere.
Avi Publishing Co. U.S.A., 1978.

- 23) Perten, H. y Perten J. "Control de Calidad en Trigo y Harinas de Trigo". Seminario de Atimo S.A. Importaciones y Exportaciones. Bs. As. Argentina, 1978.
- 24) Tipples, K.H. "Bread Baking Technology". Lecture Presented at the World Congress of Food Technology. Bs. As. Argentina, 1984.
- 25) Varavsky, E. "Micotoxinas". Reunión Sobre Ciencia y Tecnología de Alimentos, CIC (Comunicación de Investigaciones Científicas) Bs. As. Argentina, 1978.
- 26) Stauffer, C.E. "Preservative Ingredients Plus Attention to Sanitation Helps Keep Mold in Check". Baking Industry. U.S.A., 1983.
- 27) "Sorbic Acid and Potassium Sorbat for Preserving Food Freshness and Market Quality". Product Bulletin, Monsanto Industrial Chemical Co. U.S.A., 1974.
- 28) Jackel, S.S. "Mold Survey: In Bakery". Research and Development Laboratory Services. U.S.A., 1978.
- 29) Arana, R.E. "Conservación de los Alimentos Mediante Aditivos Químicos". Industria Alimentaria. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N. México, 1978.
- 30) Garduño, A.T. "Guía para la Selección de Agentes Conservadores de los Alimentos". Industria Alimentaria. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N. México, 1978.
- 31) "New Monsanto Sorbates Plant Assures Domestic Supply". Product Bulletin, Monsanto Co. U.S.A., 1977.
- 32) "Ropa y Moho en el Pan". Boletín Fleischmann de Información, 1a. y 4a. parte. México, 1979.
- 33) Andrés, C. "Antimicrobials Safety/Quality Protectors". Food Processing. U.S.A., 1985.
- 34) "Microbiología". Boletín Técnico #27, Bimbo As., 1977.

- 35) "Questions and Answers". Product Bulletin.
Monsanto Industrial Chemical Co. U.S.A., 1977.
- 36) "Conservadores". Boletín Técnico #30.
Bimbo Atz., 1980.
- 37) Frazier, W.C. "Microbiología de los Alimentos".
Ed. Acribia, España. 2a. Ed.
- 38) Jawetz, E., Melnick, J., Adelberg, E. "Manual de Microbiología Médica".
Ed. MM. 9a. Ed. Mexico, 1981.
p. 2 y 3.
- 39) Burdon, K., Williams, R. "Microbiología".
Publicaciones Culturales, S.A.
México, 1982.
- 40) Davis, B., Dulbecco, R. Eisen, H. "Tratado de Microbiología".
2a. Ed. Salvat Editores. España, 1980.
- 41) Hart, F.L. y Fischer, H.J.
"Análisis Moderno de los Alimentos".
Ed. Acribia, México. 1971.
- 42) Association of Official Analytical Chemists.
Official Methods of Analysis.
Published by the Association of Official Analytical Chemists.
13a. Ed. U.S.A., 1980.
- 43) Skoog, D.A. y West, D.M.
"Fundamentals of Analytical Chemistry".
Saunders Golden Sunburst Series.
3a. Ed. Philadelphia, 1976.