

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y ALIMENTOS



Métodos de conservación de los alimentos

MONOGRAFÍA

Por:

MARBELLA ROMERO REYES

**Presentada como requisito parcial para obtener el título
de:**

**INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Diciembre del 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y ALIMENTOS

MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE LOS ALIMENTOS

MONOGRAFÍA

Presentada por:

MARBELLA ROMERO REYES

Que se somete a consideración del H. Jurado examinador como
requisito parcial para obtener el título de:


INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

APROBADA



Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez

Presidente



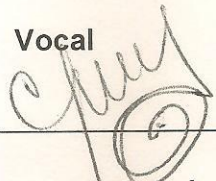
M.C. Armado Robledo Olivo

Vocal



Dr. Mario Alberto Cruz Hernández

Vocal



Ing. Gustavo López Guarín

Vocal suplente



Dr. Ramiro López Trujillo
Coordinador de la División de Ciencia Animal



BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO. DICIEMBRE DEL 2013

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por haberme dado la oportunidad de estudiar una Licenciatura y darme el derecho de ser alguien en la vida.

A los profesores que integran el **departamento de nutrición y alimentos** que día a día mostraron su interés y atenciones mostradas durante mi formación.

A la **Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez** ya que gracias a ella pude sacar adelante esta monografía, muchas gracias por el tiempo que le dedico a la presente monografía así como también muchas gracias a los vocales **Dr. Mario Alberto Cruz Hernández, M.C Armado Robledo Olivo y el Ing. Gustavo López Guarín** que forman parte de este trabajo.

A mi madre **Amelia Reyes Mejía** y hermano **Adalid Romero Reyes** por apoyarme, creer en mí, por sus consejos y sobre todo por el gran sacrificio y paciencia demostrados durante mi formación como profesionista, gracias los admiro, respeto y amo.

A mi esposo el **Ing. Nazario Alberto Gutiérrez Hernández** y mis dos hijos Carlos Alberto Gutiérrez Romero y Allison Gutiérrez Romero que son mi apoyo y motivo para seguir adelante en el día a día.

INDICE

Página

INDICE DE FIGURAS.....	viii
INDICE DE TABLAS	ix
RESUMEN.....	x
1. INTRODUCCION.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Los alimentos	3
2.1.1 Clasificación de los alimentos.....	4
2.1.2 Clasificación respecto a su alteración.....	4
3. Microorganismos	6
3.1 Clasificación de Microorganismos	6
3.1.1 Bacterias	8
3.2 Clasificación de las bacterias por su forma	8
3.3 Elementos dentro de la estructura bacteriana	9
3.4 Reproducción de las bacterias	12
3.5 Factores que influyen en el crecimiento Bacteriano	13
a) Temperatura.....	14
b) Nutrientes.....	16
c) Humedad o actividad de agua (Aw).....	16
d) Àcidez o Ph.....	17
e) Tiempo	17
3.6 Enfermedades transmitidas por microorganismos en alimentos	18
3.6.1 Toxinas Bacterianas.....	19
4. Moho.....	20
4.1 Reproducción de los Moho	20
4.2 Estructura del Moho	21
4.2.1 Contaminación fúngica de los alimentos	22

5.	Levaduras	23
5.1.1	Contaminación por levaduras en alimentos	24
6.	Métodos de conservación de los alimentos	24
6.1	Métodos de conservación Físico.....	25
6.1.1	Tratamiento no térmico.....	25
6.1.1.1	Fundamento del tratamiento no térmico.....	25
a)	Refrigeración.....	25
b)	Congelación.....	27
c)	Ultra congelación.....	28
6.2	Tratamiento térmico	30
6.2.1	Fundamento	30
a)	Pasteurización.....	30
b)	Esterilización	31
7.	Métodos de Conservación Químicos.....	33
7.1	Fundamento	33
a)	Aditivo.....	33
7.1.1	Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios	36
8.	Métodos emergentes y/o no convencionales.....	38
8.1	Calentamiento por infrarrojo	38
8.1.1	Fundamento	39
8.1.2	Equipo.....	40
8.1.3	Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios	41
8.2	Rayos ultravioleta	42
8.2.1	Fundamento	43
8.2.2	Efecto en los microorganismos y en los componentes Alimenticios	44
8.3	Calentamiento dieléctrico y por microondas.....	47
8.3.1	Fundamento	47
8.3.2	Equipo	49

8.3.3 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios	50
8.4 Conservación con atmósferas modificadas.....	51
8.4.1 Fundamento	51
8.4.2 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios	51
8.5 Altas presiones HPP	52
8.5.1 Fundamento	52
8.5.2 Equipo	52
8.5.3 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios	58
8.6 Pulsos eléctricos.....	58
8.6.1 Fundamento	58
8.6.2 Equipo	59
8.6.3 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios	61
8.7 Campos magnéticos oscilantes.....	63
8.7.1 Fundamento	64
8.7.2 Equipo	64
8.7.3 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios	65
8.8 Ultrasonidos.....	66
8.8.1 Fundamento	67
8.8.2 Equipo	67
8.8.3 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios	69
8.9 Luz blanca de alta intensidad	70
8.9.1 Fundamento	70
8.9.2 Equipo	71
8.9.3 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios	71
9 Aplicación tecnológica de las enzimas.....	73
9.1 Características de la acción enzimática.....	74
9.1.1 Clasificación de enzimas.....	75
10 Candelilla	76

10.1	Método de Extracción	78
10.1.1	Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios	81
11	Orégano	82
11.1	Método de extracción del Orégano.....	85
11.2	Aceite esencial de Orégano.....	88
11.3	Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios	89
12	Industria pesquera.....	93
12.1	Quitina	94
12.1.1	Método de Extracción	94
12.1.2	Quitosan.....	98
12.1.3	Oligosacàridos de quitosàn.....	100
12.1.4	Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios	101
13.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	115
14.	CONCLUSIONES.....	117
15.	REFERENCIAS	121

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 MORFOLOGÍA DE LA PARED BACTERIANA GRAM POSITIVA (DERECHA), Y GRAM NEGATIVA (IZQUIERDA).....	13
FIGURA 2 MORFOLOGÍA SOMÁTICA DE MOHOS, WEBSTER, 1986.....	22
FIGURA 3 ESQUEMA DE UN EQUIPO DE CALENTAMIENTO CONTINUO POR RADIACIÓN INFRARROJA(ADAPTADO DE WANG Y SHENG, 2006).....	41
FIGURA 4 EQUIPO DE EMISIÓN DE RAYOS ULTRAVIOLETA	42
FIGURA 5 PRINCIPIO DEL MÉTODO DE LOS RAYOS UV-C.....	44
FIGURA 6 VARIACIONES EN EL FACTOR DE PERDIDA DIELECTRICO DEL AGUA Y EL HIELO A DISTINTAS TEMPERATURAS (DE LEWIS,1987)	47
FIGURA 7 ESQUEMA DE UN CALENTAMIENTO DISCONTINUO POR MICROONDAS (ADAPTADO DE WANG Y SHENG, 2006).....	49
FIGURA 8 CÁMARA DE PRESURIZACIÓN DIRECTA	53
FIGURA 9 FRAGMENTO DE LA MEMBRANA CELULAR Y ROPTURA	61
FIGURA 10 FRECUENCIA EN LOS RAYOS DE ONDA	67
FIGURA 11 CÁMARA QUE DESTELLA LUZ BLANCA.....	71
FIGURA 12 DESNATURALIZACIÓN DE PROTEÍNAS.....	73
FIGURA 13 ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES EN ORÉGANO. ANTIMICROBIAL CAPACITY OF MEXICAN ORÉGANO, 2002.	83
FIGURA 14 MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE ARRASTRE CON VAPOR.....	87
FIGURA 15 OBTENCIÓN DE QUITINA Y DERIVADOS. ZAPATA, 2005.	95
FIGURA 16 ESTRUCTURA DE QUITINA, ZAPATA, 2005	99
FIGURA 17 ESTRUCTURA DE QUITOSAN, ZAPATA, 2005.....	99
FIGURA 18 ESTRUCTURA Y CARACTER CATIÓNIC DEL QUITOSANO EN DISOLUCIÓN ACIDA.	109

INDICE DE TABLAS

TABLA 1 BARREIRO ET AL, 2005.....	16
TABLA 2 BACTERIAS GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS, ALUFFI ET AL., 2005.....	20
TABLA 3 DAÑOS CAUSADOS POR TEMPERATURAS DE REFRIGERACIÓN A LAS FRUTAS Y HORTALIZAS, HARDENGURG ET AL., (1990), MARCELLIN (1992), ARTES, (2001).	27
TABLA 5 TEMPERATURA MEDIA EN LA QUE MUERE <i>ESCHERICHIA COLI</i> POR UN TIEMPO DE 10 MINUTOS. CARPENTER, 1967	31
TABLA 6 REPORTE DE LOS VALORES DE D PARA <i>SALMONELLA</i> 775 W. CARPENTER, 1967.	31
TABLA 7 NÚMERO DE ESPORAS DE <i>CLOSTRIDIUM BOTULINUM</i> A UNA TEMPERATURA DE 100 ⁰ C.CARPENTER, ET AL., 1967.	32
TABLA 8 EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA MUERTE DE LAS ESPORAS COUTESY ET AL., 1986.....	32
TABLA 9 VALORES DE “D” EN ALGUNOS MICROORGANISMOS QUE CAUSAN ESPORAS EN ALIMENTOS ÁCIDOS. COUTESY ET AL., 1986.....	33
TABLA 10 PROPIEDADES DE ALGUNOS QUÍMICOS, JAY, 1958.	35
TABLA 11 PROPIEDADES DE ALGUNOS ANTIBIÓTICOS, JAY, 1958.	37
TABLA 12 EFECTO DE LA RADIACIÓN GAMMA SOBRE LA VITAMINA A EN FRUTAS Y VERDURAS, JOHONSON, 1976.	46
TABLA 13 PATTERSON ET AL., 1995.	57
TABLA 14 COMPOSICIÓN TÍPICA DE LA CERA DE CANDELILLA. REAL, 2003.....	79
TABLA 15 PROPIEDADES FISCOQUÍMICAS DE LA CERA DE CANDELILLA. REAL, 2003.....	80
TABLA 16 CLASIFICACIÓN DEL ORÉGANO. FUENTE: LÓPEZ, 2007.	83
TABLA 17 ESPECIFICACIONES FÍSICAS Y QUÍMICAS. NMX-F-1983.....	84
TABLA 18 CONDICIONES IDEALES DE EXTRACCIÓN DE CIERTOS COMPUESTOS POR MEDIO DE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS. ESQUIVEL F, 2007.	88

RESUMEN

En la actualidad el consumidor se inclina por alimentos procesados con alto valor nutritivo y propiedades organolépticas similares a las del producto fresco y que actualmente es un reto para la industria alimentaria. La tendencia del consumidor por productos procesados que hayan experimentado el menor número de procesos o bien posean un bajo contenido de aditivos como acidulantes o antimicrobianos condujo a la industria alimentaria a buscar e implementar nuevos métodos para el procesamiento de alimentos. Dentro de los nuevos métodos de procesamiento de alimentos se encuentran los métodos amigables con la naturaleza ya que son de origen natural.

Algunos de estos procesos amigables con la naturaleza son empleados con el fin de extender la vida de anaquel del alimento, los que se estudian en esta monografía son: métodos físicos, métodos químicos, métodos emergentes y/o convencionales y los métodos amigables con la naturaleza que se pretenden destacar son: cera de candelilla, aceite esencial de orégano y los oligosacáridos de quitosan. Estos procesos presentan varias ventajas sobre los métodos convencionales de procesamiento térmico, no térmico y emergentes, ya que los procesos no térmicos se llevan a cabo a temperaturas bajas (« 50°C), ayudan a la inactivación de microorganismos patógenos y deteriorativos así como a la inactivación de enzimas, teniendo un ligero efecto sobre el color, sabor, textura y propiedades nutricias del alimento. Por contrario a lo que sucede durante el procesamiento térmico de alimentos en dónde hay pérdida de nutrientes, vitaminas y valiosos atributos sensoriales, los métodos emergentes en su mayoría aún están siendo estudiados. La posibilidad de generar alimentos que retengan sus cualidades nutricionales y a su vez sean seguros para el consumidor hace que los nuevos métodos de procesamiento de alimentos tengan un futuro prometedor.

A continuación se presenta una descripción de los fundamentos, inactivación microbiológica y sus aplicaciones en la conservación de alimentos de los procesos físicos, químicos, métodos diversos y/o emergentes y los métodos amigables con la naturaleza.

1. INTRODUCCION

En los últimos 50 años la producción mundial de alimentos ha aumentado de forma vertiginosa, incluso más que la tasa de la población mundial.

La organización para la Agricultura y Alimentación FAO, admite generalmente que sobre una producción mundial global de productos perecederos, estimada en más de 450 millones de toneladas, el 10% son objeto de comercio Mundial Internacional de larga distancia; el resto se consume en el país o se pierde cerca del 30% de las frutas y verduras(FAO,2007).

Estas evaluaciones globales encubren grandes diferencias entre continentes y países. El comercio internacional de productos perecederos comprende grupos de productos principales: como son carne, frutas, verduras y leches.

Determinados productos como carne y pescado se transportan generalmente en canal. Otras especies frutas, verduras, plantas, bulbos y flores cortadas permanecen vivas absorben oxígeno y desprenden gas carbónico. Emiten calor y vapor de agua, esto impone límites para técnicas frigoríficas utilizadas en su conservación (Cinu, 2000).

Una de las causas principal del deterioro de los alimentos es el desarrollo y proliferación de los microorganismos, que generalmente no se encuentran en el interior de los tejidos de las plantas y de los animales sanos, pero siempre están dispuestos a invadirlos si hay ruptura de la piel de frutas y verduras o en caso de los alimentos cárnicos, si ya se encuentran en canal. Así mismo, hasta el momento de la cosecha o del sacrificio las reacciones enzimáticas naturales de los alimentos, son controladas por la planta o animal que vive normalmente, pero a partir de la muerte dicho equilibrio se pierde.

Debido a que no todos los microorganismos son perjudiciales a la salud, cada año, las enfermedades causadas por los alimentos contaminados por bacterias provocan la muerte de miles de personas en el mundo. Las Naciones Unidas han informado que los alimentos contaminados constituyen

probablemente el problema de salud más difundido en el mundo contemporáneo (Iciar, 2003).

El alimento o sustrato determina los microorganismos que pueden desarrollarse, si se conocen las características del alimento se puede preceder la flora microbiana que es posible que crezca en él.

Cuando los microorganismos se encuentran en un ambiente óptimo para su desarrollo, se reproducen con tiempos de multiplicación muy breves que, en la mayoría de los casos, son del orden de pocos minutos. Se comprende pues que en estos casos el número de microorganismos puede alcanzar al cabo de pocas horas valores numéricos extremadamente elevados, incluso de varios millones.

La mayoría de las técnicas de conservación de alimentos se basa en la reducción o prevención del desarrollo microbiano, utilizando los factores que más influyen sobre el desarrollo, tales como: temperatura, actividad de agua, potencial de óxido-reducción, pH, sustrato disponible, presencia o ausencia de oxígeno, entre otros.

El deterioro y contaminación de los alimentos por microorganismos es un importante problema en todo el mundo, a pesar del amplio rango de técnicas de conservación que se emplean.

El consumidor demanda alimentos que sean procesados menos severamente, con reducción de los aditivos, preparados con técnicas suaves de conservación (Caps *et al.*, 2003).

La comercialización del conjunto de estos productos necesitan la puesta en práctica de técnicas adaptadas para protegerlos, de manera tan continua como sea posible (Iciar, 2003).

Para el control de los diferentes microorganismos presentes en los alimentos se buscan nuevos métodos de conservación como son los físicos y químicos, y hay una tendencia a los procesos naturales como son los métodos de conservación enzimática, por lo que se estudian algunos productos que sean

amigables con la naturaleza, como es el caso de: residuos de la industria pesquera: “oligosacaridos de quitosan”, cera de candelilla y aceite de orégano.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Los alimentos

Desde el punto de vista nutricional, un alimento es todo producto que, por sus componentes químicos y por sus características organolépticas, puede formar parte de una dieta con el objeto de calmar el hambre, satisfacer el apetito y aportar los nutrientes que resultan necesarios para mantener el organismo en un estado de salud. Es decir, un alimento es un producto natural o transformado, capaz de suministrar el organismo que lo ingiere la energía y las estructuras químicas necesarias para que pueda desarrollarse sin problema sus procesos biológicos (Bello, 2000).

La composición de los alimentos varía ampliamente. Depende entre otros factores de la variedad de plantas y animales, del tipo de cultivo, de las condiciones de alimentación del animal, y en algunos alimentos según su frescura, el tiempo y características de almacenamiento, así como su conservación (Vázquez *et al.*, 2005).

La alimentación es un factor importante a la salud, resulta bastante lógico exigir que todos los alimentos integrados en la alimentación deban corresponder a la consideración de sanos y seguros, para que su consumo no presente un riesgo, o daño para el hombre, sino que por el contrario, ofrezca garantías de seguridad.

Por lo que se puede definir como alimentos sanos y seguros a todos aquellos productos alimenticios que, por no contener microorganismos patógenos ni sustancias tóxicas, hacen que su consumo no pueda ocasionar ningún tipo de trastorno fisiológico, ni poner de manifiesto los síntomas de alguna enfermedad. Se trata por lo tanto, de alimentos que han sido manipulados de modo adecuado a lo largo de todas las etapas desde el inicio de su producción hasta su consumo, por lo que resulta bastante improbable el que pueda ocasionar daño o enfermedad. Puede afirmarse, por lo tanto, que la

propiedad de sano y seguro responde a una característica que, desde un punto de vista general, ha de ser exigido a todo alimento que tome parte de la alimentación humana.

Según lo acordado en la FAO/OMS en la Conferencia Internacional celebrada en Roma en 1992, la seguridad alimentaria se define como la capacidad de acceder a los alimentos necesarios para mantener al organismo dentro de un estado saludable (Bello, 2005).

2.1.1 Clasificación de los alimentos

Los alimentos pueden clasificarse según diversos criterios, dependiendo de su origen pueden ser alimentos de tipo vegetal o animal, sus mezclas y otros aditamentos. Atendiendo a su composición y función de los nutrientes predominantes, pueden ser glúcidos, lípidos, proteicos y vitamínicos. Basándose en la función nutritiva principal que desempeñan en el organismo se diferencian en: plásticos, energéticos o reguladores. Sin embargo, en la práctica, un alimento puede desempeñar más de una función (Astiasarán, 2003).

Además de los nutrientes que contiene, el 75- 95% del peso de las frutas y verduras corresponde a agua, mientras que en las carnes y el queso es el 50 - 75% (Velásquez *et al.*, 2006).

Por lo que el agua es el componente mayoritario de los alimentos y su contenido dependerá de su composición, pero especialmente de contenido de grasa presente. Usualmente a mayor contenido de grasa, menor será el contenido de agua (Barreiro, 2002).

2.1.2 Clasificación respecto a su alteración

Todos los alimentos están expuestos a alteración en mayor o menor grado, pudiéndose clasificar en:

- Perecederos
- Semiperecederos
- Estables

Son alimentos perecederos aquellos que se alteran fácilmente.

Los alimentos semiperecederos son los que permanecen estables durante cierto tiempo pero, si lo sobrepasan, se alteran.

Los alimentos estables son los que conservan sus buenas condiciones durante un tiempo prolongado (Pascual, 2005).

Los alimentos perecederos sufren cambios continuos y deterioro a lo largo de todo su ciclo de vida. Para que el control sea efectivo debe de existir un mecanismo de conservación para su comercialización (Juran *et al.*, 1983). Ejemplos de algunos alimentos perecederos son: leche, huevos, las frutas, verduras y la mayor parte de los alimentos de origen vegetal. Los agentes causales de su alteración pueden ser:

- Físicos (deshidratación superficial y profunda)
- Químicos (oxidación de pigmentos y grasas)
- Bioquímicos v (acción de enzimas tisulares)
- Microbiológicos (acción microbianas de bacterias, moho y levaduras)

Haciendo referencia solamente a los agentes microbiológicos, estos pueden actuar desarrollándose en:

- Superficie
- Profundidad

El desarrollo de la flora microbiana sobre la superficie de los alimentos comienza presentando anomalías de color, seguidas de cambio de aspecto. El crecimiento bacteriológico originado por la acción de colonias (blancas, opacas, brillantes, coloreadas, etc.) que van aumentando de tamaño y al concluir, forman un revestimiento superficial de limo sobre el alimento afectado. Este limo está constituido por bacterias y, a veces, por levaduras. La superficie se hace viscosa, mucosa o pegajosa.

El crecimiento del moho se caracteriza por la aparición de pequeñas manchas de aspecto mate que, al aumentar el tamaño, confluye formando manchas blancas, negras, verdes o marrones, principalmente.

El desarrollo de la flora microbiana en profundidad comienza con la aparición de ciertos olores anormales cada vez más intensos, continuando con edificaciones de color, consistencia y textura de los alimentos. El interior de los tejidos, reblandecidos y con mal olor puede, a veces, contener gas en forma de burbuja, fisuras, etc., que provocan su abombamiento (Pascual, 2005).

Un alimento sano es aquel que su composición carece de sustancias tóxicas, o de microorganismos patógenos, que pueden ocasionar alguna intoxicación o enfermedad en el que lo consume. Es un requisito que debe ser cumplido todo alimento en su uso, para que desde un punto de vista higiénico-sanitario, pueda ser calificado como seguro (Bello, 2003).

3. Microorganismos

Los microorganismos, o microbios, son unos seres muy pequeños (del griego *Milkros*, pequeños y *bios*, vida), de tamaño microscópico. El término incluye a todos los seres vivos cuya observación requiere el uso del microscopio.

Los microorganismos y parásitos que pueden intervenir, de una forma u otra en enfermedades de origen alimentario son principalmente:

- Microorganismos: bacterias, rickettsias, mohos, virus y priones.
- Parásitos: protozoos y helmintos (céstodos, nemátodos, tremátodos)

3.1 Clasificación de Microorganismos

La mayoría de los microorganismos son células únicas, autónomas, y de vida independiente, que pertenecen al reino animal o vegetal. Otras tienen características de ambos reinos: los protistas.

La materia viva está integrada por:

1. Organismos pluricelulares:

- Animales superiores
 - Plantas superiores
2. Organismos unicelulares:
- Protistas

Los protistas se dividen a su vez en:

1. Protistas superiores (Eucariota): Hongos, Algas y Protozoos
2. Protistas inferiores (Procariotas): Bacterias, Algas verde Azules.

La distinción entre protistas superiores e inferiores se basa en ciertos caracteres, así, los protistas superiores:

- Poseen un núcleo bien definido
- Poseen una membrana nuclear
- Carecen de pared rígida envolviendo al microorganismo
- Poseen mitocondrias
- Se reproducen por mitosis
- La célula eucariota es la unidad estructural de todos los organismos superiores

Los protistas inferiores:

- Poseen un núcleo no bien definido ya que el material nuclear (ADN) no está delimitado por una membrana sino distribuido en masas por todo el citoplasma
- Poseen una pared rígida envolviendo al microorganismo
- Carecen de mitocondrias
- Se reproducen por división binaria transversal (escisiparidad “forma de reproducción asexual”)
- Dentro de grupo de protistas inferiores se encuentran las bacterias, (microorganismos muy importantes en la Microbiología Alimentaria) y las algas verde azules.

Existen otro grupo de microorganismos con características específicas que interesan al tratar de enfermedades ocasionadas por alimentos:

- Mohos
- Rickettsias
- Virus y priones

Los parásitos (protozoos y helmintos) también ocupan su lugar como causante de enfermedades producidas por alimentos.

3.1.1 Bacterias

Dentro de los microorganismos, son las bacterias las que se desarrollan con más frecuencia en los alimentos, y en segundo lugar lo hacen los mohos.

Las bacterias son seres vivos microscópicos que nacen, crecen, se reproducen y mueren. Están presentes ampliamente en; aire, polvo, tierra, suelo, plumas, pelos, boca, nariz, garganta, tracto intestinal, ambiente, equipo de cocina, etc.

Son células de estructura sencilla, tan pequeñas que sólo se pueden ver con microscopio óptico y objetivo de 100X sobre un frotis fijado y coloreado. Sus dimensiones se miden en micras (milésimas de milímetro) y varían según la especie.

La mayor parte de las bacterias patógenas tienen un tamaño medio comprendido entre 0.5- 5 micras. No tienen dificultad para ser cultivadas *in vitro* en el laboratorio.

3.2 Clasificación de las bacterias por su forma

Cada bacteria tiene una forma y dimensiones características que sirven para su clasificación e identificación. Las formas predominantes son muy simples: esferas (cocos), alargadas (bacilos), y en forma de coma (vibrios).

Los cocos, observados al microscopio aparecen, principalmente, aislados, agrupados en cadenas (*Streptococos*) o agrupados en racimos (*Estafilococos*). Los bacilos tienen forma alargada, recta o ligeramente incurvadas, con extremos redondeados o rectos, también pueden aparecer aislados o en cadena. Los vibriones muestran forma de vírgula o coma.

Como todas las células, las bacterias están integradas por un núcleo rodeado por el citoplasma, con la diferencia de que no están separadas por ninguna membrana nuclear. La zona nuclear de las bacterias está formada por fibrillas muy finas constituidas por ácido desoxirribonucleico (ADN), mientras que el citoplasma contiene ácido ribonucleico (ARN) y proteínas.

3.3 Elementos dentro de la estructura bacteriana

Dentro de la estructura bacteriana existen elementos constantes y elementos inconstantes:

- Elementos constantes son: membrana celular, citoplasma y aparato nuclear.
- Elementos inconstantes son aquellos propios de algunas bacterias, únicamente: capsulas, flagelos y esporas.

La membrana de la célula bacteriana delimita el contorno con el citoplasma y, por su rigidez, mantiene su forma y la protege. Debajo de esta membrana, y en contacto directo con el citoplasma, existe una capa mucosa.

El citoplasma bacteriano es un hidrogel coloidal. Su riqueza en nucleoproteínas le confiere una basofilia intensa que se convierte en acidofilia con el envejecimiento. Está en contacto directo con la membrana mucosa citoplasmática que, a su vez, se encuentra rodeada por una pared celular bacteriana rígida. El citoplasma encierra numerosas inclusiones como vacuolas y granulaciones de distinto tamaño (sustancias minerales, pigmentos, enzimas, y corpúsculos metacromáticos) (Apostolodis E., 1981).

El aparato nuclear de las bacterias tiene el papel de transmitir la información genética y participar en la división celular. El núcleo se muestra como una masa esférica ovoide y, a veces, reiforme más o menos central, formada por cromatina. El núcleo no se encuentra separado del citoplasma por ninguna membrana.

Los elementos inconstantes de las bacterias se utilizan, aparte de sus propias funciones, para su identificación y clasificación, ya que no todas las bacterias los poseen y son:

- Cápsulas
- Flagelos
- Esporas

Las cápsulas son elementos de consistencia viscosa o gelatinosa con contornos bien delimitados que rodean a alguna bacteria, por lo que reciben el nombre de encapsuladas (*Bacillus anthracis*, *Clostridium perfringens*, etc.). Pueden rodear a una bacteria o al conjunto de varias de ellas agrupadas en cadena. Su papel es importante, ya que sirve como elemento de clasificación de géneros e identificación morfológica dentro de una familia bacteriana.

Tiene un interés considerable puesto que permite la diferenciación de tipos serológicos dentro de una especie bacteriana.

Su papel en el poder patógeno de las bacterias es importante, de tal forma que las bacterias encapsuladas que pierden la capacidad de elaborar cápsulas, pierden a la vez su virulencia.

Algunas bacterias están provistas de flagelos, elementos a los que se les atribuye la movilidad. La disposición de flagelos es variable, lo que sirve para la clasificación de la bacteria:

Bacteria monotricas: provistas de un solo flagelo polar

Bacterias anfitricas: provistas de dos flagelos situados cada uno en ambos extremos.

Bacterias lofotricas: provistas de varios flagelos en uno o varios extremos.

Bacteria peritricas: provistas de flagelos alrededor de su cuerpo.

Los flagelos son de naturaleza proteica y su papel es el de imprimir movilidad a las bacterias. Al igual que la cápsula, los flagelos tienen un importante interés inmunológico debido a sus propiedades antigénicas.

Ciertas bacterias producen esporas en el interior de su cuerpo: bacterias esporuladas. En las que no existe más de una spora por célula tienen forma redonda u ovoide, su dimensión se sitúa entre $0.2 - 2 \mu$ y por su localización en el interior de la bacteria es variable, por lo que se utiliza como criterio de su clasificación, se divide en:

- Esporas no deformante
- Esporas deformantes

Las esporas no deformante son aquellas cuya localización no aumenta el contorno del cuerpo bacteriano, se sitúan en forma de:

- Central
- Subterminal
- Terminal

Las esporas deformantes son aquellas cuya localización y tamaño hacen que aumente el diámetro de la bacteria, se sitúan en forma de:

- Central
- Subterminal
- Terminal

La spora se puede encontrar en dos estados:

- Estado de reposo
- Estado de actividad

La spora es un estado de reposo en un pequeño corpúsculo rodeado por una fina membrana (cubierta esporal) que será la pared de la futura bacteria (forma vegetativa). Alrededor de la membrana existen otras que, en conjunto, engloban un citoplasma con un centro más refringente que la periferia y que contiene el aparato nuclear (Wolin, M. 1973).

La capacidad de ciertas bacterias para formar esporas se denomina esporulación, y es un proceso complejo y gradual. En su última fase se produce la liberación de la espora madura como consecuencia de la lisis de la bacteria. La espora liberada puede vivir en el ambiente exterior durante años.

En condiciones favorables de humedad, temperatura y nutrición, la espora sufre una serie de transformaciones progresivas que constituyen el proceso denominado germinación. La germinación incluye a una serie de transformaciones de la espora que se producen en dos fases:

Fase inicial, en la que se desaparecen las propiedades características de la espora como son: refringencia, impermeabilidad a los colorantes y termorresistencia. En esta fase no existe síntesis de ADN ni ARN, ni proteínas.

Fase activa en la cual la espora se hincha y comienza la síntesis de las proteínas y del ARN, posteriormente se da la síntesis del ADN.

La germinación concluye con la liberación de la forma vegetativa (bacteria) que, al finalizar el proceso tiene capacidad para multiplicarse.

La espora bacteriana es muy resistente, siendo capaz de resistir a altas temperaturas aplicadas durante largos periodos de tiempo, así como altas concentraciones de sustancias químicas; algunas resisten la temperatura de ebullición del agua durante más de 5 horas.

3.4 Reproducción de las bacterias

Tras la duplicación del ADN, que está dirigida por la ADN-polimerasa que se encuentra en los mesosomas, la pared bacteriana crece hasta formar un tabique transversal separador de las dos nuevas bacterias.

Pero además de este tipo de reproducción asexual, las bacterias poseen unos mecanismos de reproducción sexual o parasexual, mediante los cuales se intercambian fragmentos de ADN. Este proceso puede realizarse por:

Transformación: Consiste en el intercambio genético producido cuando una bacteria es capaz de captar fragmentos de ADN de otra bacteria que se encuentran dispersos en el medio donde vive.

Transducción: En este caso la transferencia de ADN de una bacteria a otra se realiza, a través de un virus bacteriófago, que se comporta como un vector intermediario entre las dos bacterias.

Conjugación: En este proceso, una bacteria donadora transmite a través de un puente o Pili, un fragmento de DNA, a otra bacteria receptora .La bacteria donadora posee un plásmido, además del cromosoma bacteriano.

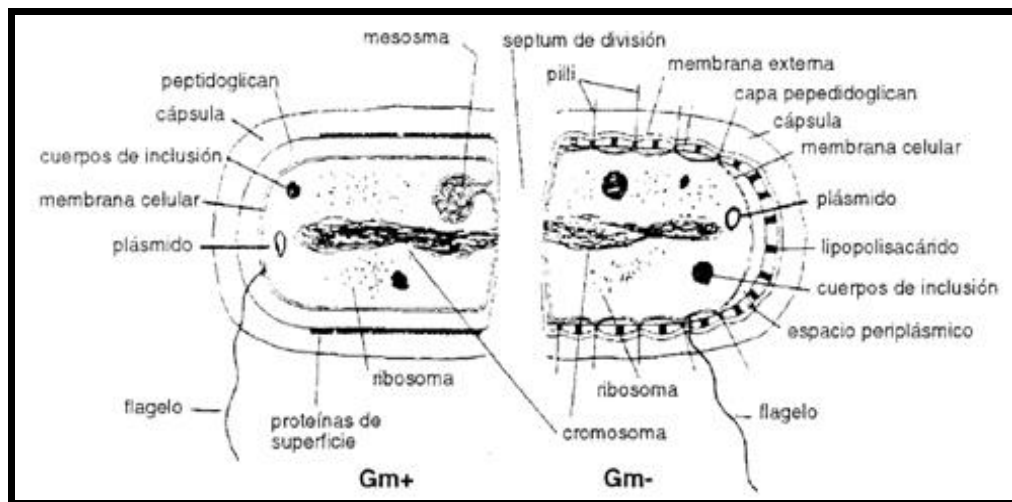


Figura 1 Morfología de la pared bacteriana Gram positiva (derecha), y Gram negativa (izquierda).

3.5 Factores que influyen en el crecimiento Bacteriano

Todo organismo debe de hallar en el medio donde se encuentren los elementos y moléculas necesarias para su crecimiento y subsistencia; a estos materiales se denominan nutrientes.

La composición elemental de los seres vivos exige que disponga de oxígeno, hidrógeno, carbono y nitrógeno en cantidades suficientes pero, además, de azufre y fósforo en menor cantidad y otros elementos como el potasio, magnesio, manganeso, calcio, hierro, cobalto, cobre, zinc, molibdeno, vitaminas entre otros. La multiplicación de las bacterias no se realiza en

ausencia de agua. Los nutrientes que utilizan las bacterias para su crecimiento atraviesan la membrana celular, cuyas paredes son muy porosas, por lo que no suponen una barrera para la penetración de las sustancias nutritivas, excepto las insolubles como la celulosa (Brock, TH. D: 1998).

Las bacterias se comportan de diversas maneras en presencia de oxígeno atmosférico, la mayoría no pueden desarrollarse ni sobrevivir sin oxígeno molecular, que constituye para ellas un nutriente esencial. Se trata de las bacterias aerobias estrictas.

Por otra parte existen bacterias denominadas “anaerobias facultativas”, que se pueden desarrollar en presencia o ausencia de aire siempre que los nutrientes necesarios estén en el medio. Esta categoría comprende bacterias que tienen un tipo de metabolismo anaerobio pero que no son sensibles al oxígeno.

Por lo que esto nos indica que las bacterias necesitan ciertas condiciones para crecer y multiplicarse. Con referencia a la bacteria patógena, estas condiciones son determinantes.

En el caso de los alimentos, las bacterias patógenas ejercen su acción perniciosa cuando son capaces de crecer y multiplicarse sobre ellos o elaborar toxinas altamente peligrosas.

Todas las bacterias, patógenas o no, exigen unas condiciones indispensables que permiten su crecimiento y replicación, como son:

a) Temperatura

Las bacterias patógenas y, en este caso, las que ocasionan enfermedades de origen alimentario, prefieren vivir a la temperatura del cuerpo humano (37°C), las que crecen y se multiplican de forma muy activa.

Los límites máximos y mínimos de temperatura en los que pueden desarrollarse habitualmente las bacterias están entre: 15 a 45 °C, excepto en el caso de *Clostridium Perfringens*, cuya temperatura óptima de crecimiento es de

47 °C. Si a partir de 37 °C se va incrementando la temperatura hacia los 50 °C, la tasa de crecimiento descende y, al superar los 50 °C, son pocas las bacterias capaces de crecer.

Según el rango de temperaturas al que pueden crecer las distintas bacterias, se pueden establecer tres tipos principales:

•**Psicrófilas o criófilas:** crecen a partir de entre -5 a 5°C.

Las llamadas psicrófilas obligadas tienen t_0 óptima a 15-18°C y t_0 máxima a 19-22°C, como por ejemplo *Flavobacterium*. La bacteria *Polaromonas vacuolata*, recientemente aislada en aguas heladas de la Antártida es lo que pudiéramos llamar un psicrófilo extremo: tiene su óptimo de crecimiento en 4°C, y es incapaz de crecer a 14°C.

Las psicrófilas facultativas (también llamadas psicrotrofas) presentan Temperatura óptima en torno a los 10-20°C y máximas a los 35°C.

•**Las mesófilas presentan** Temperatura mínimas a los 10-15°C, óptimas a los 25-40°C y máximas entre 35 y 47°C. La mayor parte de las bacterias (incluyendo las patógenas) pertenecen a esta categoría.

•**Las termófilas** presentan mínimos a 25°C, óptimos a 50-55°C y máximos entre 80 y 105°C. Dentro de esta categoría se suele distinguir las termófilas extremas (hipertermófilas), que pueden llegar a presentar óptimos cercanos a los 100°C, y que taxonómicamente pertenecen al dominio de las Archaea.

Las termófilas estrictas (o estenotermófilas), con óptimos por encima de los 80°C son de hecho incapaces de crecer a menos de 37°C, como las citadas arqueas (ejemplo, *Thermoproteus*, *Pyrococcus*, *Pyrodictium*). La arquea *Pyrolobus fumarii*, habitante de los humeros termales submarinos tiene su óptimo nada menos que a 105°C y puede llegar a aguantar 113°C, y parece detiene su metabolismo (por "frío") a la "agradable" temperatura de 90°C.

Las termófilas facultativas (o euritermófilas) pueden crecer a menos de 37°C, como por ejemplo. *Thermus aquaticus* (Barreir *et al.*, 2002).

b) Nutrientes

Como las bacterias necesitan sustancias nutritivas para subsistir, son muchos los alimentos cuyos nutrientes son los preferidos para el crecimiento y multiplicación de estos microorganismos, especialmente si son ricos en proteínas y si poseen cierto grado de humedad.

c) Humedad o actividad de agua (A_w)

La disponibilidad de agua en un alimento es el agua que se encuentra libre en el mismo y es necesaria para que las bacterias se multipliquen. Este agua "no comprometido" con ningún nutriente recibe el nombre de actividad de agua (A_w) y se indica con un número que va desde 0 hasta 1.

Cuanto más cercano a cero es ese valor, menos disponible está el agua para las bacterias y mayor tiempo durará el alimento sin deteriorarse. La mayoría de los alimentos frescos tienen valores de actividad de agua cercanos a 1.

1. Actividad de Agua (A_w) en algunos alimentos

ALIMENTO	ACTIVIDAD DE AGUA
Carne	0,98
Leche	0,99
Harina	0,70
Galletas tipo cracker	0,60

Tabla 1 Barreiro et al, 2005.

Los microorganismos presentan actividad de agua mínimas para su crecimiento. En general la mayoría de los Moho requieren A_w superior a 0,70 para su crecimiento, aunque algunos Moho halofílicos pueden crecer a 0.60. El valor presente de la mayoría de las especies es de 0.80. Las levaduras presentan valores mínimos de A_w de crecimiento superiores a 0,80, sin embargo

las levaduras osmófilas pueden crecer de 0,60 (excepcionalmente), creciendo, la mayoría de las especies a valores superiores de 0.88.

En caso de las bacterias La mayoría de las especies crecen a valores de A_w superiores a 0.91, aunque algunas bacterias halófilas pueden crecer a valores de 0.75.

Algunos patógenos presentan la siguiente A_w mínimas de crecimiento: *Salmonella* 0,88; *Staphylococcus Aureus* 0.85; *Clostridium Botulinum*, 0.89 (Barreiro *et al.*, 2002).

d) Àcidez o Ph

El pH de un alimento es la medida de su acidez o alcalinidad (por ej. el jugo de limón es ácido y el bicarbonato de sodio, básico o alcalino). El agua tiene un pH neutro de 7. La mayoría de los alimentos tiene un pH de alrededor de 7 o menos.

La mayoría de las bacterias patógenas (dañinas) crecen en alimentos de pH neutro a alcalino. Por ello cuando el alimento tiene un pH de 7 o mayor es muy susceptible a la contaminación bacteriana. Generalmente, en los alimentos que poseen un pH menor de 4,5 no se desarrollarán bacterias patógenas. El alimento se conserva mejor pero debe tenerse en cuenta que es más susceptible a daños por hongos y/o levaduras. Esto ocurre por ejemplo con los pickles y los jugos de frutas cítricas.

e) Tiempo

Algunas bacterias son capaces de multiplicarse por dos en solo 10-20 minutos, si se les proporciona las condiciones óptimas de nutrientes, humedad, Ph y calor. Si se les da el tiempo suficiente, un número inicial de bacterias pequeño puede multiplicarse a tal punto que pueden llegar a causar una ETA - Enfermedad Transmitida por Alimentos -. Por lo tanto, es esencial que los Alimentos de alto riesgo solo permanezcan en la zona de peligro el tiempo estrictamente necesario (Aluffi *et al.*, 2005).

3.6 Enfermedades transmitidas por microorganismos en alimentos

Se considera enfermedad de origen alimentario las ocasionadas al ingerir alimentos o bebidas contaminados. Muchos microorganismos pueden contaminar los alimentos, por lo que existen distintas enfermedades ocasionadas por ellos.

Las enfermedades transmitidas por alimentos son numerosas, la mayoría de ellas son infecciones ocasionadas por bacterias, virus y parásitos, otras son intoxicaciones por toxinas. La mayoría de las infecciones transmitidas por los alimentos se deben a especies bacterias del genero *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia Coli 0:157*, y un grupo de virus, los *calicivirus*, que se conocen también como virus Norwalk.

Además de enfermedades infecciosas, también existen otras ocasionadas por la presencia de toxinas producidas por algunos microorganismos al crecer en un alimento, como es el caso de las especies bacteria *Staphylococcus Aureus* y *Clostridium Botulinum*.

Los microorganismos reconocidos recientemente, constituyen un problema de salud pública por distintas razones:

- Su fácil propagación por todo el Mundo.
- La evolución de nuevos microorganismos.
- El medio ambiente.
- Los cambios ecológicos.
- Los cambios de las prácticas de producción de alimentos.
- El cambio en los hábitos del consumo.

Una vez que estos alimentos son ingeridos, existe una fase que precede a la, aparición de los primeros síntomas, el periodo de incubación, oscila entre horas y días. Los síntomas producidos dependen de la clase de microorganismo involucrado en la enfermedad. Las enfermedades de origen alimentario se diagnostican por los síntomas y la utilización de pruebas de laboratorio específico que logra determinar el microorganismo causante.

Los fenómenos de alteración microbiana de los alimentos se deben a un crecimiento excesivo sobre ellos de ciertos gérmenes. La mayoría de las veces, la alteración se manifiesta con una descomposición del alimento y la consiguiente modificación de sus caracteres organolépticos: olor, color, sabor, consistencia, formación de limo, etc.

El fenómeno de la alteración tiene, sobre todo, gran importancia ya que, en muchas ocasiones, alimento alterado, aunque no sea necesariamente perjudicial para el que lo consume, es rechazable por su aspecto. En algunos casos, no obstante, también puede existir cierto riesgo de peligrosidad.

3.6.1 Toxinas Bacterianas

Las bacterias pueden elaborar sustancias tóxicas durante su crecimiento, denominada toxinas, se distinguen dos clases de toxinas bacterianas: exotoxinas y endotoxinas.

Las exotoxinas son proteínas solubles, más o menos termolábiles, fuertemente antigénicas y de una gran toxicidad que se liberan en el medio donde crecen y se multiplican. Si actúa específicamente sobre el tejido nervioso se denominan neurotóxicas (por ejemplo neurotóxica Botulínica).

Las endotoxinas son partes constituyentes de los cuerpos bacterianos, forman moléculas mucho más complejas que las exotoxinas y están compuestas por polisíidos, lípidos y proteínas. Son termoestables y solo se encuentran en bacterias Gram negativas.

	LIBERADA FUERA DE LA BACTERIA	FORMA PARTE DEL CUERPO BACTERIANO
	EXOTOXINAS	ENDOTOXINAS
ORIGEN	Bacteria Gram Positivas	Bacteria Gram Negativas
Naturaleza	Proteína soluble	Moléculas complejas
Acción de la temperatura	Termolábiles	Termorresistentes
Poder tóxico	Muy elevado	Moderado
Poder antigénico	Muy elevado	Débil

Tabla 2 Bacterias Gram Positivas y Gram Negativas, Aluffi et al., 2005.

4. Moho

Comúnmente se le da el nombre de moho a ciertos hongos multicelulares filamentosos, dotados de un micelio verdadero, microscópicos y cuyo crecimiento en los alimentos se conoce fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso. Por esta concepción es inseguro establecer los límites entre los mohos y ciertos microorganismos encuadrados en la especie esporógenas y productoras de micelio de las levaduras.

4.1 Reproducción de los Moho

La gran mayoría de los hongos producen esporas como medio para asegurar la dispersión de la especie y su supervivencia en condiciones ambientales extremas. Así, la spora es la unidad reproductiva del hongo y contiene toda la información genética necesaria para el desarrollo de un nuevo individuo.

Existen dos tipos de esporas:

1. **Las asexuales**, que suelen ser resistentes a la sequedad y a la radiación, pero no al calor, por lo cual no tienen período de latencia. Pueden germinar cuando hay humedad, incluso en ausencia de nutrientes.

2. Las sexuales, más resistentes al calor que las asexuales, aunque no tanto como las endosporas bacterianas; suelen presentar latencia, germinando sólo cuando son activadas (por ejemplo por calor suave o alguna sustancia química).

En los hongos hay dos formas de reproducción: sexual y asexual, aunque en algunas especies coexisten ambas formas en el mismo organismo (holomorfo), denominándose estado perfecto o teleomorfo a la forma sexual y estado imperfecto o anamorfo a la asexual. De esta forma, los hongos que presentan reproducción sexual se denominan hongos perfectos y los que sólo tienen (o sólo se les conoce) reproducción asexual se denominan hongos imperfectos (Carrillo, 2003)

4.2 Estructura del Moho

Micelio es el conjunto de filamentos y un trozo del mismo se denomina hifa. Las hifas pueden presentar septos y entonces el micelio está tabicado. Septos primarios son los formados cuando hay división nuclear. Si los tabiques están ausentes se habla de micelio continuo. Los mohos son micromicetos filamentosos. Cuando el hongo es una célula aislada se dice unicelular o levadura. Los cortos filamentos compuestos por las células que brotan de una levadura constituyen el pseudomicelio. Plecténquima es un conjunto de hifas entrelazadas que se asemejan a un tejido. Se dice prosénquima si las hifas pueden ser reconocidas y pseudoparénquima cuando han perdido su individualidad. Esclerocio es un plecténquima generalmente macroscópico que puede permanecer en vida latente. Rizomorfa es un cordón grueso donde el conjunto de las hifas fusionadas ha tomado el aspecto de raíz. Rizoides son las hifas de succión, como raicillas, que penetran en el substrato. Haustorio es la hifa de succión del hongo parásito dentro de la célula.

Hospedador. Apresorios son unas hifas achatadas que se adhieren al substrato o al hospedador como sostén, especialmente en el comienzo de la infección.

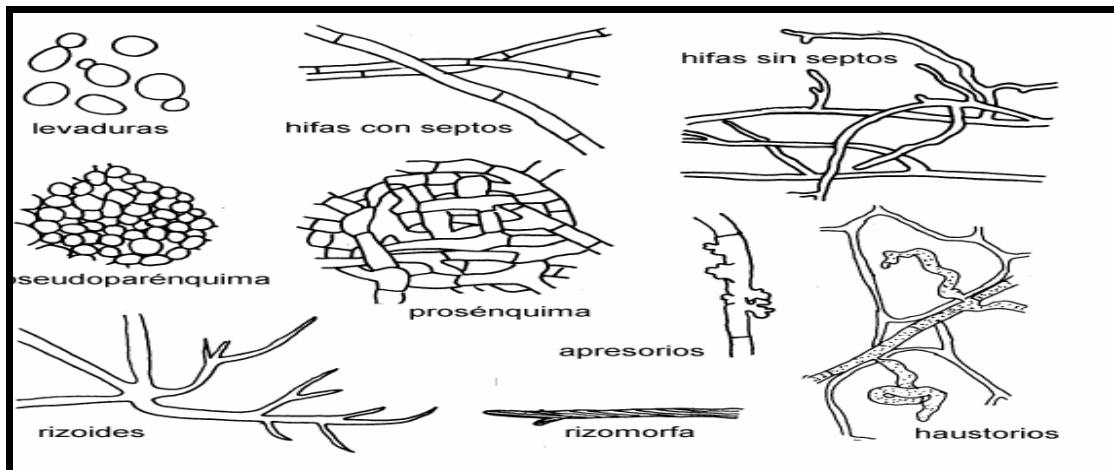


Figura 2 Morfología Somática de Mohos, Webster, 1986.

4.2.1 Contaminación fúngica de los alimentos

De la amplia dispersión de los hongos en todos los extractos bióticos e inertes se desprende su fácil y recuente aparición como contaminante en productos alimenticios, ya que estos, constituidos por sustancias inorgánicas y orgánicas más o menos complejas, constituye excelentes medios para la sustentación y reproducción de gran número de especies fúngicas.

Al igual que las bacterias, diversos factores (Ph, Aw, Temperatura, elementos nutritivos, etc.) influyen en la proliferación fúngica sobre los alimentos.

El significado de la contaminación fúngica de los alimentos, especialmente por mohos, viene no solo del potencial de los hongos para deteriorarlos, sino también del potencial de muchos de ellos para producir una gran variedad de micotoxinas a las que el hombre tiene susceptibilidad, así como su capacidad para provocar infecciones e, incluso reacciones alérgicas en personas hipersensibles a los antígenos fúngicos.

La contaminación fúngica de los alimentos puede considerarse desde un doble aspecto:

- **Actuación sobre los alimentos: bioconservadores**
- Defectos de aspecto.

- Modificaciones químicas: de valor nutricional, de carácter organoléptico.

- Y dificultades de conservación.

Actuación sobre el hombre y animales

- Patógena (micosis)
- Alérgeno (alergias)
- Tóxica (micotoxinas)

El mayor problema originado por los mohos se refiere a su gran capacidad de elaboración de Micotoxinas (*Aspergillus spp*, *Penicillium spp*, *Fusarium spp*, etc.). No obstante ciertos Mohos, pueden ser tanto agentes de micosis como responsables de intoxicaciones. (por ejemplo, *Aspergillus fumigatus*).

Se denominan micotoxinas las toxinas zootóxicas extracelulares elaboradas por hongos en alimentos consumidos por el hombre y los animales. Se ha comprobado que diferentes Mohos, pueden producir la misma toxina, y que ciertos Mohos son capaces de producir ciertas toxinas.

El número de micotoxinas conocidas en la actualidad es elevado; son destacables por su interés como contaminantes de diversos alimentos: *aflatoxinas*, *sterigmatocistina*, *ocratoxinas*, *citrina*, *patulina*, *zearalenona*, *tricothecenos*, *tremorgenos*, *ácido ciclopiazónico*, *ácido penicílico*, etc. Su determinación se lleva a cabo generalmente por técnicas de laboratorio químicas (cromatografía en capa fina, cromatografía líquida de alta eficacia) inmunológicas (enzimoinmunoensayo: ELISA).

5. Levaduras

Las levaduras son hongos que crecen generalmente en forma de agregados sueltos de células independientes, que pueden ser globosas, ovoides, piriformes, alargadas o casi cilíndricas. En algunos casos forman cadenas de células alargadas, adheridas de moho suelto, semejante a un micelio, por lo que se le denomina pseudomicelio. Algunas especies forman breves extensiones de verdadero micelio, con frecuencia ramificado.

Las levaduras, cuando crecen sobre medios sólidos, forman colonias de aspecto característico que a las colonias bacterianas en casi todas las especies de interés industrial, el modo habitual de reproducción vegetativa es por gemación. Muchas de ellas presentan reproducción sexual por medio de ascosporas y, a diferencia de los mohos, las levaduras no pueden identificarse solamente por sus caracteres morfológicos; se precisa de la prueba bioquímica para la identificación específica.

5.1.1 Contaminación por levaduras en alimentos

En cuanto su significado para la salud del consumidor, la acción de las levaduras es inefectiva (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, etc.)(Anderson, et al.1999).

6. Métodos de conservación de los alimentos

La conservación de los alimentos ha sido una tarea de vital importancia para el ser humano desde la alborada de la humanidad. En sus orígenes, el hombre era esencialmente cazador y recolector de frutos silvestres, y debía consumir sus alimentos prácticamente de inmediato, dedicando gran parte de su existencia a esta actividad.

A medida que el hombre fue descubriendo algunas técnicas primitivas de conservación de alimentos, como por ejemplo el ahumado, la cocción, el fuego y el secado al sol, se hizo posible la conservación de algunos alimentos por mayor tiempo y, por consiguiente, le permitió dedicar una parte de su tiempo a otro tipo de actividad, que condujeron el desarrollo de inventos e innovaciones tecnológicas.

La concentración de conglomerados en pueblos y ciudades hizo necesario el desarrollo de métodos de conservación más efectivos que permitieran disponer de cantidades adecuadas de alimentos producidos en las épocas de cosecha, para ser utilizadas en otras temporadas del año, cuando la disponibilidad de alimentos fuese inferior.

En la actualidad existen métodos físicos y químicos para la conservación de alimentos, en los físicos se encuentran incluidos los tratamientos térmicos y no térmicos.

Para determinar la letalidad exigida a un tratamiento para que el producto obtenido presente la estabilidad (conservación), es necesario conocer: la concentración de la bacteria esporulada y los parámetros de Termorresistencia de la bacteria (Casp *et al.*, 2003).

6.1 Métodos de conservación Físico

6.1.1 Tratamiento no térmico

Los avances de la termodinámica permitieron el enfriamiento de los alimentos para su conservación, primero mediante hielo natural y el de salmuera capaces de descender el punto crioscópico y luego mediante la producción artificial de hielo empleando refrigeración mecánica.

En la actualidad los principales métodos de conservación con tratamiento no térmico son:

- Refrigeración
- Congelación
- Ultra congelación

6.1.1.1 Fundamento del tratamiento no térmico

Transferir la energía del cuerpo que pretendemos enfriar a otro, aprovechando sus propiedades termodinámicas. La temperatura es el reflejo de la cantidad o nivel de energía que posee el cuerpo, ya que el frío propiamente no existe, los cuerpos solo tienen más o menos energía térmica. De esta manera enfriar corresponde a retirar Energía (calor).

a) Refrigeración

Refrigeración de los alimentos mediante la utilización de temperaturas ligeramente superiores a los 0°C (generalmente 2-4°C), que inhiben durante unos días o semanas el crecimiento de los microorganismos.

Los microorganismos que generalmente se inhiben son los termófilos y algunos psicófilos, y tiene mayor importancia en la inhibición de los microorganismos.

Daños por frío

El daño por frío es un daño fisiológico permanente e irreversible a los tejidos vegetales, orgánicos o células el cual resulta al exponer a los alimentos sensibles a temperaturas inferiores a las críticas para el producto o variedad, por periodos suficientes para evidenciar el daño. La extensión de los daños por frío está definida tanto por la temperatura como por la duración de la exposición a la temperatura crítica.

Se manifiestan de diversas formas, dependiendo del producto, incluyendo: picado y lesiones superficiales, ruptura de tejidos y pérdida de agua, oscurecimiento interno de la pulpa y sistema vascular, desordenes en el proceso de maduración, cambio de olor, color y textura (Barreiro, 2002).

PRODUCTO	T° MINIMA INFERIOR (°C)	SINTOMAS MAS FRECUENTES
Aceituna	5-7	Picado, pardeamiento de la piel, susceptibilidad a podredumbres.
Aguacate	5-13	Pardeamiento de la piel y pulpa, susceptible a podredumbre.
Alcachofa	0-3	Pardeamiento de las puntas y bordes de hojas.
Albaricoque	0	Pardeamiento de la pulpa, junto al hueso.
Arándano	2	Textura gomosa, enrojecimiento de la pulpa.
Banana verde o maduras	12-14	Coloración de la piel anómala grisácea o parda.
Batata	13	Pardeamiento interno, picado, descomposición interna, endurecimiento de la pulpa en la cocción.

Berenjena	7-10	Escaldadura superficial, podredumbre (Alternaria sp.)
Ciruela	0-1	Pulpa traslucida, consistencia gelatinosa de la pupa
Calabaza	10	Picado susceptibilidad a al podredumbre.
Guayaba	5-10	Picado, pardeamiento de la piel
Granada	5	Picado, pardeamiento de la piel, podredumbre.
Jícama	13-18	pardeamiento de la piel, deshidratación.
Lima	7-10	Picado, pardeamiento del flavedo.
Limón	11-14	Picado, pardeamiento del flavedo, necrosis.
Mango	10-13	Escaldadura, maduración incompleta.
Manzana	2-4	Escaldadura superficial o blanda, pardeamiento interno.
Naranja y mandarina	3-9	Picado, Escaldadura superficial, necrosis, pardeamiento flavedo.
Patata	4-5	Color interno anómalo, ennegrecimiento.
Papaya	7	Descomposición interna y aroma anómalo.
Pepino	7-10	Picado, infiltración acuosa, ablandamiento.
Tomate verde	7-10	Ablandamiento y color anómalo.

Tabla 3 Daños causados por temperaturas de refrigeración a las frutas y hortalizas, Hardengurg et al., (1990), Marcellin (1992), Artes, (2001).

b) Congelación

Congelación de los alimentos y bebidas, a temperaturas inferiores a los 0°C, del orden de -15/-25°C, que inhiben durante semanas e incluso meses el desarrollo de los microorganismos, es una forma de conservación que se basa en la solidificación del agua contenida en los alimentos.

c) Ultra congelación

Ultra congelación rápida de los alimentos a bajas temperaturas $-18^{\circ}\text{C}/-35^{\circ}\text{C}$, con lo que se inhibe el desarrollo de los microorganismos.

Calidad bacteriológica. Mediante la acción de bajas temperaturas sobre los alimentos, se consigue reducir o eliminar las actividades microbianas o enzimáticas que provocan su destrucción, se utilizan en productos cárnicos, frutas y Hortalizas (Madrid *et al.*, 2003)

Por lo tanto la conservación durante el almacenaje en frío de los alimentos depende de una serie de condiciones que deben de tomarse en cuenta, para evitar pérdidas del producto (Plank, 1984).

Las bacterias difieren en su capacidad para sobrevivir durante la congelación, suelen ser más sensibles las bacterias Gram negativas.

Salmonella es menos resistente que *Staphylococcus aureus* o células vegetativas de clostridios, mientras que endosporas y toxinas no se ven afectados por bajas temperaturas.

Aunque en todas las bacterias que se sometieron al tratamiento hubo una reducción a lo largo del tratamiento, en ningún caso los microorganismos mueren (Georgala *et al.*, 1963).

Respecto a los microorganismos Gram positivos, el nivel de eficacia del tratamiento en la reducción de los niveles de contaminación es claramente dependiente del pH. Mientras que a pH alcalino la reducción es casi nula, si el pH disminuye por debajo de 6, la reducción es evidente y puede oscilar entre el 10% hasta el 99%. Entre este grupo hay que destacar a *Staphylococcus aureus*, un conocido patógeno productor de toxinas. Sin embargo la toxina no se ve afectada, en absoluto, por el tratamiento (Muntada, *et al.*, 1995).

Curiosamente, *Listeria monocytogenes*, uno de los patógenos reconocidos más recientemente, es un Gram positivo que ha recibido especial atención en cuanto a los efectos de la congelación. Estos estudios han permitido poner de manifiesto una serie de condiciones en las que el tratamiento de congelación puede permitir una reducción en los niveles de eliminación:

- Cuando la temperatura de congelación es superior a -18°C es más letal que cuando la temperatura es inferior a -198°C (nitrógeno líquido).

- Sucesivas congelaciones-descongelaciones manifiestan la mayor letalidad a las temperaturas habituales de congelación y mantenimiento congelado.

- La congelación y descongelación hacen a *Listeria monocytogenes* más susceptible a la acción de cualquier otro agente antimicrobiano.

- Al igual que otros microorganismos, si el medio es ácido, la sensibilidad del microorganismo a las bajas temperaturas se incrementa, siendo especialmente interesante si el pH es inferior a 4,7.

- Por su parte, los microorganismos Gram negativos son mucho más sensibles a la acción del frío. En este grupo encontramos a todas las especies de la familia de las enterobacterias, y en consecuencia, a microorganismos responsables de la mayor parte de las toxiinfecciones alimentarias en el mundo, como son *Salmonella* y *Escherichia coli*.

- De entre ellos, *Salmonella spp* es conocida por su tolerancia a la congelación, siendo demostrable la existencia de este microorganismo en muestras congeladas de alimentos durante más de un año. Sin embargo, cuando el pH es ácido, y la integridad del alimento se pierde, la capacidad de supervivencia del microorganismo se ve seriamente limitada. Por este motivo, en embutidos o en carne picada, al disminuir el pH y congelar, se puede apreciar como más del 90% de las células de *Salmonella* se ven afectadas, aunque más del 60% sufren lesiones subletales, por lo que pueden no ponerse de manifiesto en medios de cultivo aún cuando estén presentes en el alimento (Palumbo, 1991).

6.2 Tratamiento térmico

6.2.1 Fundamento

El objetivo es destruir los microorganismos patógenos, evitar alteraciones por microorganismos no patógenos, aplicar el grado de cocción (calor) adecuado al alimento, y así tener una mejor conservación de los alimentos (Casp *et al.*, 2003).

a) Pasteurización

Tratamiento térmico de baja intensidad para eliminar microorganismos patógenos, se pueden elegir dos sistemas de pasteurización:

Baja temperatura durante un tiempo largo (LTLT: low Temperature- Long Time): que para la leche sería mantener el producto a 63⁰C durante 30 min., de manera que se consiga destruir el bacilo tuberculoso sin que la proteína empleada afecte la proteína.

Alta temperatura durante un tiempo corto (HTST: HIGH temperature-short time): que en el caso de la leche consistiría en un calentamiento a 75 ⁰C durante 15-20 segundos y en el de los zumos llegaría hasta 77-92⁰C durante 15-60 segundos. En este caso las propiedades de los productos se ve muy poco afectados, aunque las temperaturas sean más altas, por el corto tiempo de mantenimiento (Caps, 2003). El factor limitante de los tratamientos de pasteurización es su actuación sobre las características organolépticas y nutricionales de los alimentos tratados.

Medio	Temperatura de muerte (°C)
Crema	73
Toda la leche	69
Leche descremada	65
Suero de leche	63
Caldo	61

Tabla 4 Temperatura media en la que muere *Escherichia Coli* por un tiempo de 10 minutos. Carpenter, 1967

TEMPERATURA (°C)	VALORES DE D	CONCICIONES
61	1.1 minutos	Huevos liquido
61	1.19 minutos	Caldo de triptosa
65.6	34-35.3 segundos	Leche
65	0.8 minutos	30% de sacarosa
65	43 minutos	70% de sacarosa
65	2 minutos	30% de glucosa
65	17 minutos	70% de glucosa

Tabla 5 Reporte de los valores de d para salmonella 775 w. Carpenter, 1967.

b) Esterilización

Tratamiento térmico, aplicado generalmente a productos poco ácidos en los que pueden desarrollarse bacterias esporuladas, cuyos fines son eliminar los riesgos para la salud pública y que el producto sea suficientemente estable para permitir un almacenamiento de larga duración a temperatura ambiente. Se realiza a temperatura superior a los 100°C para conseguir la destrucción de las floras patógena y banal, incluyendo las formas esporuladas. La aplicación del calor sobre los alimentos no solamente va a afectar a una

carga microbiana, sino que también actuara sobre el resto de sus propiedades del alimento.

NUMERO DE ESPORAS	TIEMPO (minutos)
72,000,000,000	240
1,640,000,000	125
32,000,000	110
650,000	85
16,400	50
328	40

Tabla 6 Número de esporas de *Clostridium Botulinum* a una temperatura de 100 °
C.Carpenter, et al., 1967.

Temperatura (°C)	Un Thermofilo (150,000 esporas por ml de jugo de maíz a Ph de 6.1)
100	1.4 minutos
105	-----
110	180 minutos
115	60 minutos
120	17 minutos

Tabla 7 Efecto de la temperatura en la muerte de las esporas Coutesy et al.,
1986.

Valores de "D" en algunos microorganismos que causan esporas en alimentos ácidos.				
MICROORGANISMO	SUSTRATO	°C	D (MIN)	Z
<i>Neosartorya fischeri</i>	PO ₄ buffer, Ph 7.0	85	35.25	4
<i>Neosartorya fischeri</i>	PO ₄ buffer, Ph 7.0	87	11.1	4
<i>Neosartorya fischeri</i>	Jugo de manzana	87.9	1.4	5.6
<i>Talaromyces flavus</i>	Jugo de manzana	90.6	2.2	5.2
<i>Alicylobacillus</i>	Jugo de uva, 30°C	85	76	6.6
<i>Alicylobacillus</i>	Jugo de uva 30°C	90	18	6.6
<i>Alicylobacillus</i>	Jugo de uva 30°C	95	2.3	6.6

Tabla 8 Valores de "D" en algunos microorganismos que causan esporas en alimentos ácidos. Coutesy et al., 1986

7. Métodos de Conservación Químicos

7.1 Fundamento

La FDA define a un conservador químico como cualquier compuesto químico que cuando se adiciona a un alimento tiende a prevenir o retardar su deterioro, pero no se incluye a la sal común, azúcares, vinagres, especias y sustancias que se adicionan al alimento por exposición directa como humo de madera (Jay, 1991).

Conservación por agentes químicos son aditivos que Previenen el desarrollo de microorganismos en alimentos (hongos, levaduras y bacterias) (Welti, 1998).

a) Aditivo

Son sustancias químicas, naturales o sintéticas, que añadimos a los alimentos para facilitar su conservación, mejorar su apariencia, darle sabor o color. Además de estos aditivos incorporados voluntariamente a los alimentos, algunas sustancias químicas se añaden de forma indirecta en el proceso de embalado, o en el de producción.

Efectividad

Especificidad de acción: determinado tipo de microorganismos, composición del alimento: pH, nutrimentos, nivel inicial de contaminación, manejo y distribución del producto terminado, condiciones de uso Reglamentadas estrictamente en todos los países del mundo.

Los conservantes alimentarios, a las concentraciones autorizadas, no matan en general a los microorganismos, sino que solamente evitan su proliferación. Por lo tanto, solo son útiles con materias primas de buena calidad (Gould, 1996).

Agentes autorizados

Conservador	Tolerancia máxima	Microorganismos afectados	Alimento
Ácido propionico/Propianatos	0.32%	Mohos	Pan, pasteles, algunos quesos.
Ácido Sorbico y Sorbatos	0.2%	Mohos	Queso, higos, jarabes, aderezo para ensaladas, jaleas, pan
Acido Benzoico/Benzoatos	0.1%	Levaduras y Mohos	Margarina, manzana, bebidas, salsa de tomate, aderezo para ensaladas
Parabencenos	0.1%	Levaduras y Mohos	Panes, bebidas, aderezo para salsa
S02 sulfitos	200-300 ppm	Insectos, Microorganismos	melaza, frutas secas, vino, jugo de limón (no carnes u alimentos como fuente de tiamina)
Etileno, Propileno	700 ppm	Levaduras, Moho, parasitos	Fumigante para frutos secos
Acetato de sodio	0,32%	Mohos	Pan
Nisina	1%	Clostridia	Quesos pasteurizados
Ácido acético	65 ppm	Insectos	Pesticidas en fresas
Nitrato de sodio	120 ppm	Clostridium	Carnes curadas
Ácido caprilico	_____	Mohos	Quesos
Formato de etilo	15-220 ppm	Levaduras y Mohos	Frutos secos

Tabla 9 Propiedades de algunos Químicos, Jay, 1958.

7.1.1 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios

Ácido propionico: se han realizado estudios para atacar principalmente a *Bacillus mesentericus*, responsable de una alteración característica del pan y de la repostería, conocida como “pan filante”(Karel, 1996).

Nisina

Es un conservante bastante efectivo contra las bacterias gram-positivas, ya que se une a sus membranas interfiriendo en sus sistemas de transferencia de protones. En particular, se podría utilizar para combatir a varios microorganismos patógenos, como *Clostridium botulinum* y *Bacillus cereus*, que forman endoesporas que resisten mejor el calentamiento que las células vegetativas y también *Listeria monocytogenes*. La nisina es también muy eficaz en la prevención de alteraciones del queso, especialmente quesos fundidos, producidas por *Clostridia*. La nicina no es inefectiva contra las bacterias gram negativas, levaduras y moho (Collings, *et al.*, 1981).

El ácido benzoico

Es un conservante activo en medio ácido, generalmente por debajo de pH 5, y en algunas especies solamente por debajo de pH 4. Es útil contra bacterias, mohos y levaduras, especialmente contra levaduras. Llega a inhibir el crecimiento de algunas especies con concentraciones de solamente 0,01%

Ácido sorbico y sorbatos

La resistencia de las bacterias al ácido láctico, especialmente a Ph 4,5 o superior, permitidos su uso como una fungistático en los productos a los que se someten a fermentaciones. Es efectivo contra *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Coliformes*, *seudomonas*, *Clostridium Botulimun* y *Vibrio parahaemolyticus*, contra este último, la concentración, precios tan bajos como 30 ppm han demostrado ser eficaces (Murano,1995). Inhibe levaduras de tipo: *Brettanmyces*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Zygosaccharomyces*. Inhibe Moho de tipo: *Alternaria*, *Ascochyto*, *Aspergillus*, *Byssochlamys*, *Botrytis*, *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Penicillum*, *Geotrichum* (Sofos, 1983).

Sulfitos

Es bacteriostático contra *Acetobacter spp* en concentraciones de 100-200ppm. En la carne de cerdo con 100 ppm, tiene un efecto significativo para las esporas de *C. Botulinum*. de 15- 109 ppm a Ph de 7 se inhibe la salmonella severas, pero *Serratia liquefaciens*, *S. marcescens* y *Hafnia alvei* a estas cantidades muestran más resistencia por lo que se requiere de 185-270 ppm de de SO₂. (Counsell, et al., 1986). Ácido sulfuro a niveles de 0.2- 20 ppm son efectivos contra *Saccharomyces*, *Pichia* and *Candida*, donde *Zygo sacharomyces bailii* requiere de 230 ppm para inhibición de bebidas de frutas con Ph. de 3.1 (Roberts 1965).

Propiedad	Tetraciclina	Subtilina	Tilosina	Nisina	Natamicina
Ampliamente utilizado en los alimentos	No	No	No	Si	Si
Primeros usos en alimentos	1950	1950	1961	1951	1956
Naturaleza química	Tetraciclina	Polipeptido	Macrolide	polipeptido	Polyene
Utilizarse junto con calor	No	Si	Si	Si	No
Estabilidad al calor	Sensible	Estable	Estable	Estable	Estable
Espectro microbial	G ⁺ G ⁻	G ⁺	G ⁺	G ⁺	Hongos
Usado como medicina	Si	No	Si	No	Si
Usado en alimentos	Si	No	Si	No	No

Tabla 10 Propiedades de algunos Antibióticos, Jay, 1958.

Algunos antimicrobianos puede ser directamente microbicidas, mientras que otros actúan como microbiostáticos que también acarrea la muerte celular acepto las esporas de *Bacillaceae* (Mossel, 1982).

Agentes antifúngico de frutas “Benomyl”

Es aplicado en frutas en concentraciones de 0,5- 1.0 g/L para evitar la putrefacción de bananas y algunos frutos cítricos, también es utilizado en manzanas, peras, mangos y papayas (Ecker, 1979).

8. Métodos emergentes y/o no convencionales

En los últimos 30 años, se han investigado diversos métodos para la conservación e higienización de los alimentos y han aparecido una serie de tecnologías emergentes de procesado (altas presiones, pulsos eléctricos de alta intensidad, campos magnéticos oscilantes, pulsos luminosos de alta intensidad y ultrasonidos), de las cuales **la presurización** es en entre éstas técnicas la más viable desde el punto de vista comercial (Hoover, 1997).

8.1 Calentamiento por infrarrojo

El nombre de infrarrojo significa por debajo del rojo pues su comienzo se encuentra adyacente al color rojo del espectro visible. La longitud de onda extendida desde 780-1000 nanómetros.

Los infrarrojos se pueden categorizar en:

Infrarrojo cercano (0.78-1.1 μm)

Infrarrojo medio (1.1-1.5 μm)

Infrarrojo lejano (15-100 μm)

La energía infrarroja es una radiación electromagnética emitida por los objetos calientes. Esta radiación emite una energía que calienta los productos que la absorben. Todos los cuerpos con temperatura por encima del “cero absoluto” irradian energía infrarroja; los cuerpos más calientes irradian más

energía que los más fríos. La radiación de energía infrarroja proviene de un cuerpo caliente (elemento calentador) que golpe a la superficie de un cuerpo más frío (pieza de trabajo), es absorbida y convertida en energía calorífica.

8.1.1 Fundamento

El principio más importante en el calentamiento infrarrojo es que la energía infrarroja se irradia desde la fuente en líneas rectas y no se convierte en energía calorífica hasta que es absorbida por la pieza de trabajo.

La velocidad de intercambio calórico de esta radiación depende de:

1. La temperatura en la superficie de los productos calientes y de los que reciben la irradiación.
2. Las características de las superficies de ambos materiales.
3. La forma de ambos objetos.

La cantidad de calor emitida por un objeto radiante (denominado cuerpo negro) se calcula a partir de la siguiente ecuación de Stefan- Boltzmann:

$$Q = \sigma AT^4$$

Donde:

Q: velocidad de emisión calórica, J·s⁻¹

$\sigma = 5.7 \cdot 10^{-8} \text{ J} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{K}^{-4}$

A: área superficial, m²

T: temperatura absoluta, K.

Esta ecuación se utiliza también para un objeto absorbedor perfecto, conocido también como cuerpo negro. Sin embargo, los calentadores radiantes no son radiadores perfectos y tampoco los alimentos son absorbedores perfectos, a pesar de que ambos emiten y absorben una fracción constante del máximo teórico. Para tomar en consideración este efecto se ha desarrollado el concepto de cuerpos grises. Para ellos, la ecuación de Stefan-Boltzmann toma la siguiente forma:

$$Q = E\sigma AT^4$$

Donde E es la emisividad del cuerpo gris (entre 0 y 1). Esta emisividad varía con la temperatura del cuerpo gris y la longitud de onda de la radiación

emitida.

La cantidad de energía absorbida, y por tanto el grado de calentamiento, varía desde cero hasta absorción completa. Ello viene dado por los componentes del alimento, que absorben radiación en distintas proporciones y de la longitud de onda de la energía radiante. Parte de esta energía se absorbe y parte es reflejada fuera del alimento. La cantidad de radiación absorbida por un cuerpo gris es denominada absorbida y es igual a la emisión. La radiación que no es absorbida, es reflejada y se le denomina reflectividad. Ello viene determinado en cierto grado por los componentes del alimento y por la longitud de onda de la energía radiada. Hay dos tipos de reflexión: la que tiene lugar en la superficie del alimento y la que se produce una vez la radiación ha penetrado en la estructura del alimento. La de la superficie es la que produce el brillo que se observa en los materiales pulidos, mientras que la que penetra da lugar al color del alimento.

La longitud de onda de la radiación infrarroja se halla determinada por la temperatura de la fuente de radiación. Cuanto más elevada es la temperatura, más corta es la longitud de onda de la radiación y mayor su capacidad de penetración.

8.1.2 Equipo

Los equipos por calentamiento por radiación infrarroja suelen ser de funcionamiento continuo. Normalmente el alimento es desplazado a una cámara de tratamiento mediante una cinta transportadora. El alimento es irradiado con una fuente de radiación infrarroja normalmente montada sobre un soporte de altura variable que permite regular la distancia entre la fuente IR y el producto. La duración del tratamiento se controla por el tiempo de permanencia que un ordenador puede modificar variando la velocidad de la cinta transportadora. Debido a la baja penetración de la radiación IR los productos a tratar deben ser de pequeño espesor (Adaptado de Wang y Sheng, 2006).

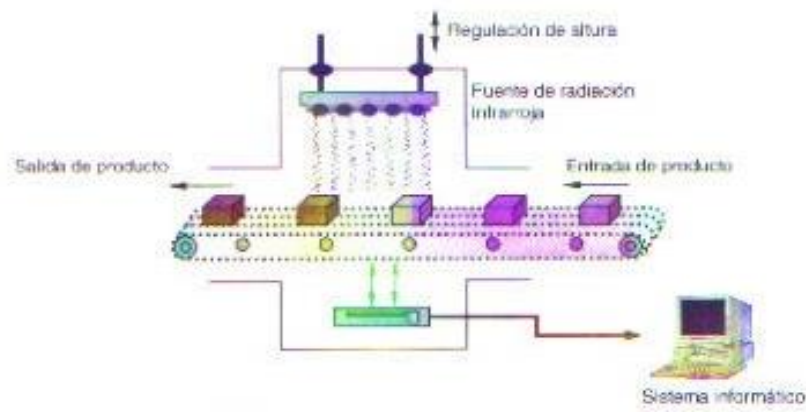


Figura 3 Esquema de un equipo de calentamiento continuo por radiación infrarroja(Adaptado de Wang y Sheng, 2006)

La irradiación de los alimentos es un método físico de conservación, comparable a otros que utilizan el calor o el frío. Consiste en exponer el producto a la acción de las radiaciones ionizantes (capaz de transformar moléculas y átomos en iones, quitando electrones) durante un cierto lapso, que es proporcionar la cantidad de energía que deseamos que el alimento absorba, su unidad es Gray (Gy), que es la absorción de un Joule de energía por Kilo de masa Irradiada. Entre las principales se encuentran Rayos Beta, Rayos Gamma, Rayos X y Microondas (Patterson, 1989).

Como se puede ver, la irradiación de los alimentos es un método de conservación que busca alargar la vida media del producto y aumentar las cualidades higiénico-sanitarias del alimento, y se clasifican en función de la dosis media requerida para lograr el propósito(J. Am., 2000).

8.1.3 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios

Los estados Unidos y países del este. Ginzburg descubrió el secado de granos, harinas, vegetales, pasta, carne y pescado, y demostró que el calentamiento IR podría tener mucho éxito en su aplicación en los alimentos. Sandu planteo como ventaja del secado IR en alimentos, su versatilidad, sencillez de los equipos requeridos, su fácil con el secado convectivo, conductivo y microondas, y también un ahorro importante de energía.

Las bacterias Gram positivas son más resistentes a irradiaciones que las Gram negativas, En general, los formadores de esporas son más resistentes que los no formadores de esporas. Entre las formas de esporas, *Paenibacillus Chapter* parece un mayor grado de resistencia que la mayoría de los demás formadores de esporas aerobias.

Las esporas de *C. Botulimun* tipo A son las más resistentes, aparte de las siete especies muy resistentes formadoras de esporas, se encuentran *Enterococcus faecium* R53, *micrococci* y *lactobacilos heterofermentativos* son de las bacterias que también resisten y que no son formadoras de esporas (Lefebvre, 1992).

Además de que los productos pueden ser una vez que ya se encuentran envasados, que aumenta aún más la seguridad e inocuidad.

8.2 Rayos ultravioleta

La luz UV es una radiación, es decir, una emisión de energía que se propaga a través del espacio y de los materiales, y consiste en exponer con esta radiación al alimento a tratar durante un tiempo determinado, el necesario para conseguir nuestro objetivo.

De los tres tipos de luz UV (A,B y C) UVC res la que tiene poder germicida. Los rayos UV se crean con unas lámparas de mercurio a baja presión, de aspecto similar a los tubos fluorescentes, pero con emisión de UV.

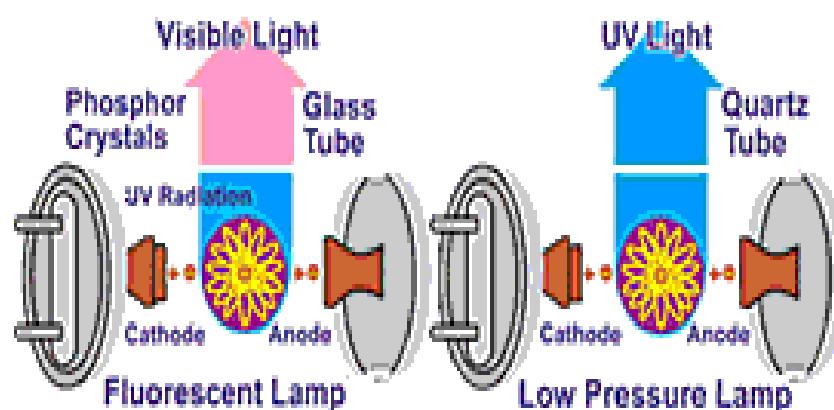


Figura 4 Equipó de emisión de rayos Ultravioleta

La radiación UVC tiene efecto directo en el ADN de los microorganismos, evitando que se multipliquen las cadenas del mismo, cuando intentan replicarse se mueren. Las células vegetativas son más sensibles al tratamiento seguidas de las levaduras y mohos, las esporas y virus son más resistentes.

8.2.1 Fundamento

La manera más simple de construir un sistema de UV-C para tratar alimentos líquidos es usando un sistema de tubos concéntricos con una lámpara UV, contenedores para los líquidos, tubos de plástico o tuberías sanitarias, sistema de refrigeración y bombas.

Una lámpara ultravioleta cubierta con un revestimiento o funda hecha de cuarzo, como en un intercambiador de calor, puede colocarse en un dentro de un sistema concéntrico. El líquido fluirá a través de la parte anular.

La lámpara UV-C que se encuentra en el centro del sistema proporciona la cantidad de luz requerida para la desinfección. Por lo tanto el revestimiento requiere de tubos conectores en la salida del sistema para utilizarlos como un sistema de circulación. El líquido que pasa a través el sistema se puede recircular o tratar continuamente en la parte anular para alcanzar el efecto germicida requerido. Sin embargo se puede conectar más de un sistema de tubos concéntricos, en un arreglo para aumentar el efecto germicida en el alimento líquido sin tener que recircularlo. Se puede añadir un sistema de refrigeración en la entrada o salida del sistema concéntrico para enfriar el líquido antes del tratamiento con luz UV. Se puede usar bombas para controlar la velocidad del flujo y así aplicar a dosis requeridas.

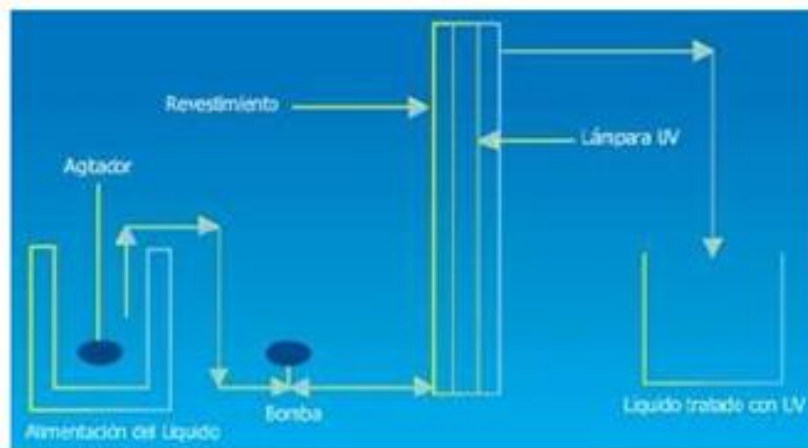


Figura 5 Principio del método de los rayos UV-C

Se necesitan dispositivos mezcladores antes y después de la unidad UV-C para asegurar una mezcla apropiada de microorganismos en el sistema y obtener así una muestra representativa para evaluar los microorganismos residuales después del procesamiento. Es necesario un flujo turbulento durante el procesamiento con luz UV para asegurar que todo el producto recibió la misma dosis de luz UV.

8.2.2 Efecto en los microorganismos y en los componentes Alimenticios

Inactivación de *Salmonella*, *E. coli* y *Listeria monocytogenes* en tampón fosfato salino-y jugo de manzana por rayos ultravioleta y tratamientos térmicos

Dos cepas de *Escherichia coli* (K-12 y O157: H7), *Salmonella* (*enteritidis* y *typhimurium*) y *Listeria monocytogenes* (AS-1 y M24-1) fueron suspendidas en forma individual-tampón fosfato salino (PBS) y el zumo de manzana antes de la exposición a la radiación ultravioleta (220-300 nm) y calefacción a 55 ° C. El cálculo de tiempos de reducción decimal (D valor, min) variado con la suspensión de medio y modo de inactivación. El AS-1 y M24-1 cepas de *L. monocytogenes* se consideran más resistentes a los rayos UV en PBS (0.28-0.29 min), mientras que la AS-1 es la cepa más resistente en zumo (1,26 min). El AS-1 cepa de *L. monocytogenes* y *E. coli* O157: H7 fueron los más resistentes al calor cuando se suspendió en PBS (4,41 min) y jugo (4,43 min), respectivamente. Los resultados obtenidos de este estudio podrá ser utilizado

por los procesadores de jugo de manzana en la selección de los organismos apropiados para la irradiación UV.

Efectos de las suplementario ultravioleta-B y el cadmio en el crecimiento, los antioxidantes y el rendimiento de *Pisum sativum L* (Alonzo, 2009).

- **Ventajas**

No se usan químicos que se tengan que almacenar o manejar, no hay problemas por una dosis, no afectan el medio ambiente.

- Costo de capital inicial bajo así como también se reducen los gastos de operación comparándolos con las tecnologías similares como el ozono y el cloro.

- Proceso inmediato.
- No hay ningún cambio en el color, olor, ph o en la conductividad, ni tampoco en la química general del agua.
- Operación automática sin atenciones especiales o mediciones, sin necesidad de un operador.

Inconvenientes del uso de la irradiación de alimentos

1. No se puede usarse para todos los productos.
2. Pérdidas de vitaminas, particularmente la A y en menor escala la B y la E.

De los diversos estudios realizados para conocer el efecto de la radiación en los alimentos parece haber acuerdo en que:

a) Ciertos productos son sensibles a la radiación y como consecuencia puede producir pérdida de vitaminas.

b) Los trabajos realizados hasta la fecha no son tan concluyentes como parecen y a veces son contradictorios.

No obstante, y para iniciar el análisis del problema hay que recordar que la radiación no actúa de manera semejante en todo tipo de productos y el grado de

destrucción de las vitaminas depende de la composición y del porcentaje de agua del alimento, del tiempo transcurrido entre la irradiación y el análisis, de las condiciones de almacenaje previas y posteriores a la irradiación, de la dosis de radiación y de la tasa de dosis, de la naturaleza y concentración de la vitamina, del tipo de atmósfera, de la temperatura y otras variables (Johanson, 1976).

Producto	Forma de provitamina A	Dosis de radiación (kGy)	% de pérdida de provitamina A
Mango fresco	Beta caroteno	0.75	0
	Carotenoides totales	0.25	25
	Carotenoides totales	0.75	20 – 40 c
Zanahoria fresca	Beta caroteno	0.08	30
Zanahoria seca en polvo	Beta caroteno	1 y 10	9 – 14
Zanahorias enlatadas	Carotenoides totales	18.6	0 – 56 a
Habas verdes Enlatadas	Carotenoides totales	18.6	5 – 95 a
Brócoli enlatado	Carotenoides totales	18.6	25 – 50 a
Maíz enlatado	Beta caroteno	10	46 – 80 b
Espinacas congeladas	Beta caroteno	0.5	0

Tabla 11 Efecto de la radiación gamma sobre la vitamina A en frutas y verduras, Johanson, 1976.

Con relación a las verduras, las zanahorias irradiadas con 0.08 kGy para prevenir el rebrote, pierden el 30 % de vitamina A, sin embargo, las pérdidas se reducen notablemente cuando el producto está seco.

La pérdida de vitamina A en los productos enlatados depende de las condiciones de enlatado, del tipo de producto, de condiciones adicionales (presencia/ausencia de aire, temperatura de almacenamiento, etc.).

Por ejemplo, las pérdidas de vitamina A en el huevo en polvo se reducen hasta un 7 % cuando la irradiación se aplica a la temperatura de -80°C y a un 6 % si se hace al vacío (Anellis *et al.*, 1975).

8.3 Calentamiento dieléctrico y por microondas

8.3.1 Fundamento

La teoría de la molécula de agua está constituida por un átomo de oxígeno, cargado negativamente, y dos átomos de hidrógeno, cargados positivamente. La molécula adquiere, por tanto, la forma de un dipolo eléctrico. Cuando el alimento se somete a un campo eléctrico de elevada frecuencia, los dipolos de agua se reorientan con cada cambio de polaridad. El número de dipolos existente y los cambios inducidos por el campo eléctrico, determinan la constante dieléctrica del alimento en cuestión.

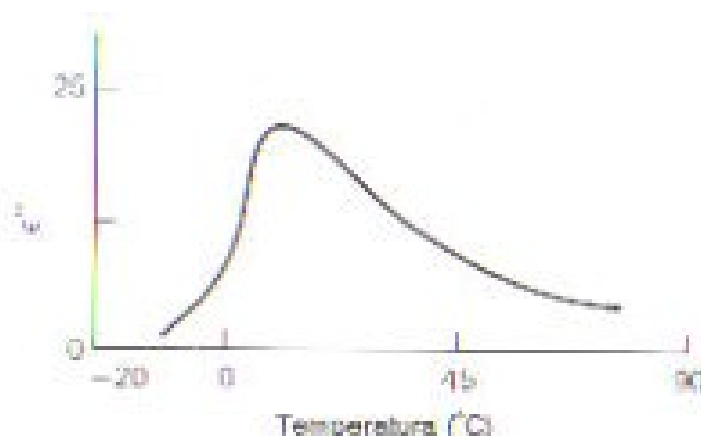


Figura 6 Variaciones en el factor de pérdida dieléctrica del agua y el hielo a distintas temperaturas (De Lewis, 1987)

La constante dieléctrica representa la relación existente entre la capacitancia del alimento y la del aire (algunas veces, el vacío). Las diversas distorsiones y deformaciones de la estructura molecular provocadas por la reorientación de los dipolos, disipan la energía aplicada en forma de calor. El tiempo (unas fracciones de microsegundo) que transcurre hasta que los dipolos reaccionan al campo eléctrico, se denomina tiempo de relajación. Este tiempo depende de la viscosidad del alimento y por tanto, también de la temperatura. Así, por ejemplo, cuando el agua se transforma en hielo, la constante dieléctrica continúa disminuyendo a medida que el hielo se va enfriando. El hielo, por tanto, es más transparente a la energía de microondas por el agua. Los alimentos congelados cuyo contenido en agua es elevado van absorbiendo más energía a medida que se van descongelando. (Ver Figura a)

Cuando el alimento se coloca en la trayectoria de las microondas, parte de la energía electromagnética es absorbida convirtiéndose en calor. La cantidad de energía absorbida se halla determinada por el coeficiente de pérdida del material. En los alimentos de elevado contenido en agua, su factor de pérdida es elevado también, por lo que la absorción de energía es muy rápida. Como la energía se distribuye en el alimento de forma desigual, la transmisión del calor se produce en el alimento por conducción. El vidrio, el papel y algunos materiales de envasado constituidos por polímeros, poseen un factor pérdida bajo (son transparentes a las microondas) y en consecuencia, no se calientan. En cambio los metales reflejan las microondas. La profundidad de penetración de las microondas se halla determinada por el factor de pérdida del alimento en cuestión y la longitud de onda o la frecuencia de la radiación:

$$x = \lambda / (2\pi(\epsilon' \tan \delta)^{0,5})$$

En la anterior expresión $x(m)$ representa la profundidad de penetración, $\lambda(m)$ la longitud de onda en el espacio, ϵ' la constante dieléctrica y $\delta(\epsilon/\epsilon')$ la tangente de pérdida (factor de pérdida o constante de disipación). La potencia absorbida por el alimento se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$P=55.61+10^{-14}fE^2\varepsilon''$$

En ella $P(\text{W}/\text{m}^3)$ representa la potencia por unidad de volumen, $f(\text{Hz})$ la frecuencia y $E(\text{W}/\text{m})$ la fuerza dieléctrica del campo. Por tanto, con alimentos de pequeño tamaño, o con un bajo factor de pérdida, utilizando longitudes de onda más largas (896 MHz y 915 Mz) se obtiene una mayor penetración y un calentamiento más uniforme. Sin embargo, no siempre se requiere una gran penetración, por lo que la longitud de las microondas se elige de acuerdo con el objetivo perseguido por la radiación.

8.3.2 Equipo

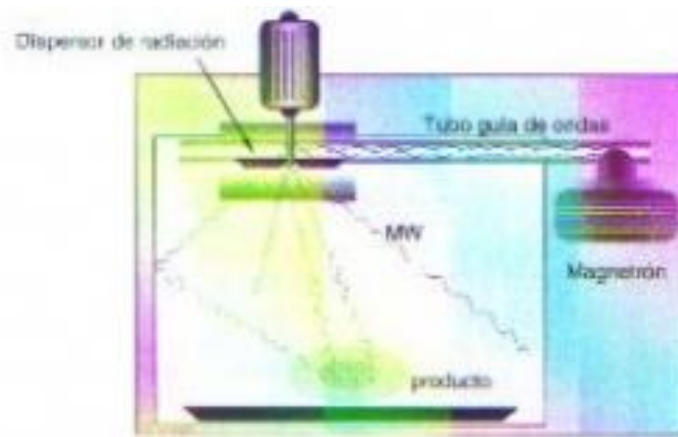


Figura 7 Esquema de un calentamiento discontinuo por microondas (Adaptado de Wang y Sheng, 2006)

Las instalaciones para la pasterización o esterilización por MW constan de una o varias fuentes de generación de radiación (magnetron), un tubo guía de ondas para conducir esta radiación hacia la cámara de tratamiento, un ventilador cuya hélice es de un material capaz de reflejar la radiación MW para dispersarla adecuadamente. En los equipos continuos el alimento a tratar se circula mediante una cinta transportadora a lo largo de un túnel en el que es sometido a radiación MW. En los discontinuos normalmente el alimento se coloca sobre un dispositivo giratorio que permite la distribución uniforme de la radiación en el alimento.

8.3.3 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios

Los atractivos de la energía de microondas residen en la elevada velocidad de calentamiento y en que no provoca cambios en la superficie del alimento. Se han publicado estudios sobre la utilización del calentamiento por microondas en muchos alimentos. Decareau (1985) ha publicado una extensa revisión a este respecto. La comodidad que supone el calentamiento de los alimentos por microondas ha estimulado el desarrollo de diversos productos y envases que pueden soportar este sistema de calentamiento en los hornos domésticos. Estos aspectos han sido revisados por Anón. (1987b) y Anón. (1987c). El tratamiento industrial por microondas se halla limitado por los costes inherentes a este método y por la necesidad de sintonizar el magnetrón con diversos alimentos, o incluso variedades distintas. La aplicación industrial más importante de este sistema es la descongelación y atemperado de los alimentos, la deshidratación y el horneado. Roseberg y Bogl (1987a) y Decareau (1985) han publicado sendas revisiones al respecto. La utilización de las microondas con los alimentos de elevado contenido en agua (por ejemplo: para el escaldado y la pasteurización) han tenidos menos éxito. Ello se debe a la escasa profundidad de penetración alcanzada en piezas grandes de alimentos y al efecto refrigerante que provoca la evaporación del agua en su superficie, que es la causa de las elevadas tasas de supervivencia de los microorganismos en esta zona. Estas aplicaciones, que se discuten brevemente en esta sección, han sido revisadas con detalle por Rosenberg y Bogl (1987b). Se han estudiado extensamente la posibilidad de utilización de las microondas en los procesos de liofilización acelerada pero, como este sistema resulta excesivamente caro, su utilización no se ha difundido.

Efecto sobre los alimentos

Los cambios que provocan las microondas se deben al calor que generan pero, al contrario que las radiaciones ionizantes, no ejercen ningún tipo de efecto sobre los microorganismos. Es esperable que las elevadas velocidades de intercambio calórico que la pasteurización y el escaldado requieren para la obtención de un determinado efecto de destrucción sobre enzimas y

microorganismos, supongan pérdidas menores en componentes termolábiles. Los datos publicados con respecto a muchos alimentos así lo indican ya que por ejemplo no se han registrado pérdidas de caroteno en las zanahorias escaldadas por microondas: en cambio las pérdidas registradas en el escaldado por vapor eran de un 28% y en el escaldado por agua caliente, del 45%. Sin embargo, los resultados obtenidos con otros alimentos son muy variables, por lo que en ellos el calentamiento por microondas, comparado con el calentamiento por vapor, no parece presentar ninguna ventaja.

El calentamiento dieléctrico puede ser aplicado a todas las frecuencias electromagnéticas superiores o iguales al espectro de infrarrojos, generalmente se realiza a frecuencias de 1 y 100 MHz, mientras que el calentamiento por Microondas funciona entre 300 MHz y 300 GHz.

8.4 Conservación con atmósferas modificadas

El uso de atmósferas modificadas para el envasado de frutas y hortalizas permite prolongar la vida útil del producto sin detrimento de sus propiedades organolépticas y nutricionales.

8.4.1 Fundamento

La conservación en atmósfera controlada consiste en la conservación bajo refrigeración en una atmósfera de composición diferente de la del aire (78.08 % N₂, 21% O₂ y 0.03%% CO₂), esencialmente empobrecida en O₂ y enriquecida en CO₂ (Hernando, 2007).

8.4.2 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios

Conservación por atmósferas modificadas de moluscos bivalvos vivos en recipiente hermético. La invención consiste en un procedimiento de conservación de moluscos vivos mediante la utilización de una atmósfera modificada rica en oxígeno con un segundo componente mayoritario nitrógeno con el objetivo de mantener los moluscos bivalvos vivos, salvaguardando la calidad de este alimento el mayor tiempo posible en la cadena de comercialización y venta. El envase que contiene los moluscos para su comercialización, debe de estar repleto y bien compactado,

por lo cual en la operación de llenado deben encajarse las unidades perfectamente empleando los efectos de un vibrador, para que durante la comercialización los bivalvos no tengan la oportunidad de poder abrir las valvas y perder el líquido intervalvar. Los resultados se consideran de un enorme interés para el sector mejillonero por tratarse del bivalvo más popular en el mercado por su volumen de ventas y su precio (Pastoriza et al., 2003).

8.5 Altas presiones HPP

El procesado de un alimento por alta presión (HPP, por sus siglas en inglés) inactiva los microorganismos perjudiciales produciendo pérdidas mínimas en la calidad del alimento (Torres, et al., 2005).

8.5.1 Fundamento

El tratamiento de HHP se basa en el principio de Le Chatelier de acuerdo al cual, cualquier reacción, cambio en conformación o cambio de fase acompañado por una disminución en volumen se ve favorecido a altas presiones, mientras que las reacciones relacionadas con el incremento en volumen son inhibidas.

En el procesamiento de alimentos por HHP se aplica presión al alimento de manera isostática, es decir, el alimento es comprimido uniformemente en todas direcciones regresando a su forma original al ser eliminada la presión. Una de las ventajas del tratamiento por HHP es su aplicación a alimentos líquidos o sólidos (PALOU, 1998).

8.5.2 Equipo

Un sistema de HHP consta de una cámara de tratamiento con chaqueta, un sistema generador de alta presión, medio transmisor de presión, controlador de temperatura y el equipo para el manejo del alimento.

A fin de iniciar el tratamiento de HHP el alimento se introduce a la cámara de tratamiento. Una vez cerrada la cámara de tratamiento, esta se llena con un medio transmisor de la presión. El medio transmisor de presión es el que comprime al alimento de manera isostática; por lo general se emplea agua

potable o bien agua potable emulsificada con agentes anti-corrosivos que ayudan a prevenir el deterioro de la cámara de tratamiento. A continuación se remueve el aire a fin de presurizar la cámara. La presurización puede ser de manera directa con ayuda de un pistón que comprime el medio transmisor de la presión (Figura 8), de manera indirecta bombeando el medio transmisor de presión al interior de la cámara hasta que se alcanza la presión deseada o bien por calentamiento del medio transmisor de presión. El procesamiento de alimentos por HHP consta de carga, presurización, tiempo de retención, despresurización y descarga.

Los tiempos de retención a la presión de procesamiento varían en un rango de 5a 20min., de acuerdo al alimento y temperatura de procesamiento. Las presiones empleadas durante el procesamiento del alimento son mayores a 400 MPa (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 1998).

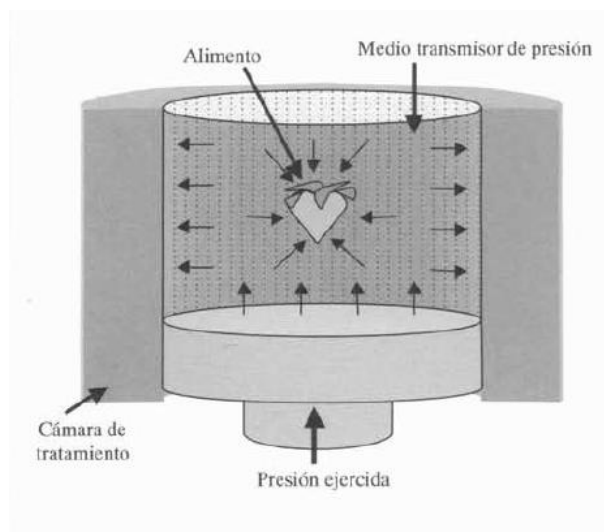


Figura 8 Cámara de presurización directa

Es característico del procesamiento a HHP el tratamiento del alimento ya envasado por lo que se elimina el riesgo de contaminación posterior al procesamiento. El producto puede envasarse en multilaminados, películas de alcohol etilen-vinílico (EVOH) y alcohol polivinílico (PVOH) o bien en envases de aluminio (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 1998).

Inactivación de microorganismos

La inactivación de microorganismos como *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Staphylococcus aureus* entre otros ha sido estudiada.

La alta presión hidrostática provoca un incremento en la permeabilidad de la célula, inhibe reacciones energéticas y desnaturaliza enzimas esenciales para el crecimiento y reproducción de la célula microbiana.

Se ha observado la formación de filamentos y disminución de motilidad por pérdida de flagelos en microorganismos tratados por alta presión hidrostática.

Los factores que intervienen en el grado de inactivación de los microorganismos son el tipo de microorganismo y su fase de crecimiento, la magnitud, duración y la temperatura del tratamiento de HHP, así como la composición del alimento (pH, actividad de agua, etc.) (PALOU, 1998).

Dentro de los microorganismos existen diferencias en cuanto al grado de inactivación logrado por medio de HHP. Los microorganismos Gram positivos son más resistentes que los Gram negativos. Microorganismos patógenos como la *L. monocytogenes* y *S. aureus* requieren de 20 min a 340 MPa y 400 MPa respectivamente para una reducción de 6 ciclos logarítmicos.

Los microorganismos en estado vegetativo se inactivan a presiones de 400-600 MPa, mientras que las esporas y algunas especies resisten 1000 MPa a temperatura ambiente. El género de los *Staphylococcus* se encuentra dentro de las más resistentes puesto que sobrevive 500 MPa durante más de 60 min. Algunas levaduras como *S. cerevisiae* sufren dos reducciones logarítmicas a 304 MPa y más de 6 reducciones logarítmicas a 405 MPa (PALOU, 1998).

Los microorganismos son más susceptibles a la alta presión cuando están en la fase de crecimiento logarítmica.

Esto puede deberse a que en la fase estacionaria su tamaño es pequeño y esférico en comparación con la forma alargada que tienen durante el crecimiento

logarítmico. Las esporas de *Bacillus cereus* no sufren una reducción logarítmica considerable aún a 608 MPa por 10 min. Sin embargo algunas esporas germinan a dichas presiones por tanto se puede lograr la inactivación de las células vegetativas. Por otro lado, el origen del cultivo microbiano es de suma importancia durante la inactivación del microorganismo por altas presiones. *L. monocytogenes* obtenida de una colección de cultivos después de 30 min a 375 MPa presentó una reducción de sólo 3 ciclos logarítmicos mientras que el mismo tratamiento aplicado a la cepa Scott A así como a una especie aislada del pollo presentó una reducción de 4 y 7 ciclos logarítmicos respectivamente (PALOU, 1998).

El efecto letal que la alta presión ejerce sobre los microorganismos radica fundamentalmente en los cambios que induce en las reacciones bioquímicas, en los mecanismos genéticos y en la pared y membrana celulares (Hoover *et al.*, 1989). En general, las presiones de trabajo oscilan entre 400 y 900 MPa. Dicha presión se transmite de forma instantánea y uniforme, independientemente del tamaño, forma o composición del alimento. (Cheftel, 1991). El tiempo de aplicación varía entre unos pocos segundos e incluso milisegundos (pulsos de alta presión) y 30 minutos (Cheftel, 1991).

Además, los equipamientos actuales permiten también trabajar en un rango de temperaturas amplio, entre 5°C y más de 100°C. A este respecto, hay que tener en cuenta que debido a la compresión tiene lugar una subida de temperatura del producto (calentamiento adiabático) que suele ser de unos 3°C por cada 100 MPa, dependiendo de la temperatura inicial y de la composición del producto. El calentamiento adiabático depende de la temperatura inicial del producto y de su composición. Por ejemplo, cuanto más graso sea más °C subirá su temperatura. El aumento de la temperatura del producto debido a la presión aplicada también es uniforme en todo el producto, lo que supone una gran ventaja respecto a la pasteurización y esterilización convencionales.

Los **mohos y las levaduras** son muy sensibles y se consigue su inactivación aplicando presiones del orden de 300-400 MPa a temperatura ambiente (Cheftel, 1995).

Las esporas bacterianas son muy resistentes y pueden sobrevivir a presiones de hasta 1000 MPa. Hasta el momento, el microorganismo esporulado patógeno más resistente a las altas presiones son las esporas del *Clostridium botulinum* no proteolítico (tipo B). (Reddy *et al.*, 2001).

En el caso de los **alimentos de baja acidez**, la combinación de altas presiones y temperatura parece ser la solución más adecuada siempre y cuando la combinación de ambas tecnologías a dosis relativamente bajas diera lugar a un efecto sinérgico sobre la inactivación microbiana con el mínimo deterioro de la calidad organoléptica del producto. De este modo se obtendrían alimentos estables a temperatura ambiente. En este sentido, la **esterilización** con altas presiones se puede conseguir a través de la aplicación de una gran diversidad de tratamientos, seleccionando adecuadamente la presión, temperatura y tiempo de tratamiento, y utilizando el aumento de temperatura del producto debido al calentamiento adiabático.

En alimentos ácidos mantenidos a temperatura ambiente y en alimentos de baja acidez almacenados en refrigeración, para conseguir una vida útil adecuada, es necesario lograr una reducción de 10^6 ufc por gramo de alimento en los microorganismos patógenos más peligrosos como son: *Listeria spp.*, *Staphylococcus spp.*, *E. Coli O157:H7* y *Salmonella spp.*

En general:

- Productos ácidos con pH menor de 4 pueden conservarse bien tras tratarlos a 580 MPa durante 3 minutos.

- Para alimentos con pH entre 4 y 4,5 el tratamiento 580 MPa se aplicaría durante 15 minutos.

Para productos de baja acidez y conservación a temperatura ambiente, sería necesaria la combinación de varios tratamientos (aplicación de temperatura, adición de bacteriocinas, etc.). En este campo, todavía se está en fase de experimentación científico-técnica (Hoover, 1997).

Los seis agentes patógenos de la leche y carne de aves de corral fue investigado por *Patterson et al.*, que encontraron **Yersina enterocolitica** por se la más sensible con mayor reducción 10^5 en pH Buffer de 7.0 durante 15 minutos con 275 Mpa. En las mismas condiciones para lo otros cinco microorganismos, los resultados pueron los siguientes:

MPa requeridos	Microorganismo
275	<i>Yersina enterocolitica</i>
350	<i>Salmonella serotype Typhimurium</i>
375	<i>L. monocirigena</i>
450	<i>Salmonella serotype Enteritidis</i>
700	<i>Staphylococcus aureus</i>
700	<i>E. coli 0157: H7</i>

Tabla 12 Patterson et al., 1995.

Efectos del tratamiento con alta presión hidrostática

Los microorganismos, reacciones químicas, bioquímicas y enzimáticas, así como propiedades funcionales de algunos alimentos se ven afectadas por las HHP. Presiones en el rango de 100-300 MPa ocasionan desdoblamiento de proteínas o desnaturalización proteica reversible. Mientras que presiones mayores a 300 MPa provocan desnaturalización proteica irreversible. A consecuencia de la desnaturalización proteica la absorción de aminoácidos disminuye promoviéndose así la inactivación de la célula microbiana (PALOU, 1998).

La actividad enzimática incrementa o disminuye a causa de la HHP. Enzimas como la pectina metilesterasa se inactivan a presiones entre 300-400 MPa. Mientras que la actividad de la polifenol oxidasa aumenta con el incremento en presión. Sin embargo, se inactiva en presencia de 0.5% de ácido cítrico (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 1998).

Algunas reacciones como las fermentativas y productoras de pigmentos se ven disminuidas por el tratamiento a HHP.

8.5.3 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios

HHP es empleada para la pasteurización de jugos de fruta y prevención de post-acidificación del yoghurt.

También puede llevarse a cabo la esterilización de frutas como duraznos y peras. Dentro de las aplicaciones de la HHP también se cuenta la elaboración de geles de suirimi y gelación de huevo. Los geles producidos por HHP en comparación con los producidos por tratamientos térmicos poseen mejor sabor, mayor elasticidad y retención de vitaminas y aminoácidos (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 1998).

Hoy en día se encuentran en el mercado mermeladas, jalea de manzana, yoghurts, aderezos para ensalada y salsas de frutas elaborados con ayuda de HHP por la compañía japonesa Meidi-ya Food Co. Se ha observado que la jalea procesada por HHP retiene el 95% de la vitamina C mientras que aquellas procesadas por métodos térmicos retienen solo 72% (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 1998). Otro de los productos disponibles en el mercado es el guacamole procesado en México con ayuda de HHP (PALOU, 1998).

8.6 Pulsos eléctricos

8.6.1 Fundamento

La aplicación de pulsos eléctricos de alta intensidad (20 - 80 kV/cm) que se generan cuando un par de electrodos de alto voltaje se cargan y descargan en fracciones de segundo sobre los alimentos. Cuando un producto se expone a un campo de pulsos eléctricos de alta intensidad, las membranas celulares desarrollan poros permanentes o temporales, según las condiciones del tratamiento. Estos poros aumentan la permeabilidad de la membrana, permitiendo la pérdida de contenido celular o la entrada del medio que rodea a la célula; ambos efectos pueden causar la muerte celular, la temperatura con la

que trabaja esta entre 35-50 °C, para alimentos líquidos y semilíquidos (Astondo, 2006).

El principal objetivo es aumentar la vida útil, debido a que es considerado un proceso de pasteurización, los productos deben posteriormente mantenerse en refrigeración. Mientras que su aplicación en carnes o pescados es más complicada (por el proceso en sí y por los posibles efectos en la textura de los productos), en vegetales tiene gran potencial, permitiendo mejorar su digestibilidad y aumentando la biodisponibilidad de nutrientes.

8.6.2 Equipo

Un sistema para procesamiento de alimentos por PEF consta de diversos equipos siendo los principales la fuente de alto voltaje, un condensador para almacenamiento de energía, la cámara de tratamiento y controlador e interruptor de alto voltaje. La energía eléctrica es almacenada en el condensador el cual descarga en forma de pulso eléctrico con alta intensidad a la cámara de tratamiento. La descarga del condensador es controlada por una computadora y se lleva a cabo por medio de interruptores de alto voltaje capaces de operar a alta frecuencia (ej., 0.1-5000 Hz).

De esta manera el alimento en la cámara de tratamiento recibe en forma instantánea un pulso eléctrico de alta intensidad con duración de 0.14-5 μ s. La intensidad del campo eléctrico aplicado al alimento es función de las propiedades dieléctricas del alimento, de la energía aportada por la fuente de alto voltaje y de la distancia entre electrodos. La intensidad del campo eléctrico es inversamente proporcional a la distancia entre los electrodos. Cuando la distancia entre los electrodos es pequeña (ej. 0.6-0.4 mm) la intensidad del campo eléctrico es elevada. Existen diversos tipos de cámaras de tratamiento, algunas de ellas permiten el procesamiento de alimentos de manera estacionaria (ej. placas paralelas) mientras que otras permiten el flujo continuo de producto (ej. placas paralelas, cilindro concéntrico) (QIN et al., 1996).

Mecanismo de inactivación microbiana

El mecanismo de inactivación de microorganismos por PEF no es del todo comprendido. Existen diversas teorías respecto al modo de acción de los pulsos sobre las células microbianas. Una de las teorías más aceptadas es la de la ruptura dieléctrica de la membrana celular. La teoría de la ruptura dieléctrica explica la electroporación, o formación de poros, considerando a la membrana celular como un condensador con propiedades dieléctricas bajas. Cuando se aplica un campo eléctrico externo (E) a la célula, las cargas eléctricas se incrementan generándose un potencial a través de la membrana celular. Las cargas acumuladas en ambos lados de la membrana celular se atraen por lo que la membrana se comprime y su espesor se reduce. Las fuerzas elásticas de la membrana se oponen a la compresión. Sin embargo, cuando la atracción de cargas es mayor se originan poros en la membrana celular. Otra teoría explica la electroporación en base a la reorientación de las proteínas y los lípidos presentes en la membrana celular. El cambio en orientación de los componentes de la membrana celular debido al campo eléctrico genera poros en la membrana (Figura 9). La electroporación puede ser reversible o irreversible. Cuando una célula es expuesta a un campo eléctrico de mayor a 10kV/cm durante 2-20 f.l.s, se observa electroporación irreversible (QIN et al., 1996). El proceso de electroporación de la membrana celular da por resultado la destrucción física de la célula siempre y cuando al tamaño del poro sea de 0.3-0.5 nm y el número de poros sea mayor en comparación con el tamaño de la célula (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 1998a). La destrucción física ocurre cuando se ha excedido la intensidad crítica de campo eléctrico (E_c) de la célula. La intensidad crítica de campo eléctrico y el potencial a través de la membrana dependen de la célula microbiana y de las propiedades dieléctricas del alimento sujeto a PEF (QIN et al., 1996).

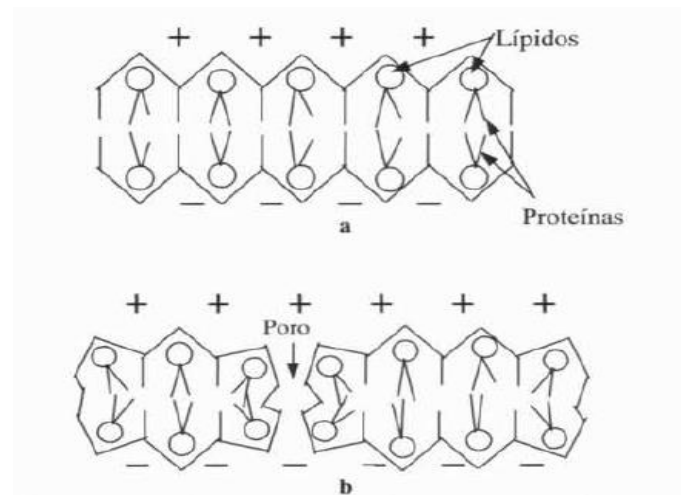


Figura 9 Fragmento de la membrana celular y ruptura

8.6.3 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios

En lo que a aspectos de **seguridad** se refiere, este tratamiento es capaz de inactivar microorganismos en forma vegetativa, produciendo una reducción de cinco logaritmos de la mayoría de **patógenos**. Existen resultados concluyentes de efectividad del tratamiento para especies de *Listeria*, *Salmonella*, *Escherichia* (incluyendo *E.coli* O157:H7), *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* y *Candida*.

En general, las **bacterias** han demostrado ser más resistentes a los pulsos eléctricos que las levaduras, mientras que las **esporas bacterianas** y las ascosporas de **mohos** y **levaduras** son muy resistentes a este tratamiento. Esta incapacidad de inactivación de la mayoría de las esporas bacterianas, hace que no sea un proceso apto para la esterilización de alimentos (Pothakamury et al., 2006).

Astondo Bidea.2006. Portal de Tecnologías y Mercados del Sector Alimentario

Sale y Hamilton (1967 y 1968) observaron también que la población bacteriana dependía principalmente de dos factores:

- La intensidad de los pulsos eléctricos

- El tiempo de tratamiento (la duración del pulso por el número de pulsos)

Aun así, existen factores como la fase de crecimiento de los microorganismos y su estado que hacen variar su sensibilidad frente al tratamiento con pulsos eléctricos. Jacob et al. (1981) y Hülshager et al. (1983) encontraron que células de levaduras en fase de crecimiento logarítmico eran más sensibles a los pulsos eléctricos que las que se encontraban en fase estacionaria. Estos resultados fueron corroborados por Pothakamury et al. (1996) con *E. coli*. Wouters et al. (1999) también estudiaron la influencia del estado fisiológico de los microorganismos, especialmente de *Listeria innocua*, en la cinética de inactivación, y observaron que, a menor tiempo de incubación, la inactivación después de aplicar pulsos eléctricos de alta intensidad de campo era mayor. Vega et al. (1996) observaron que la velocidad de inactivación dependía de la *fuerza iónica del medio y del pH*; tratando leche inoculada con *E. coli* con pulsos de 55 kV demostraron que la efectividad del tratamiento era superior a valores más bajos de pH, mientras que a medida que aumentaba la fuerza iónica la inactivación era menor. Según Hülshager et al. (1981) y Martin et al. (1994), al añadir al alimento cationes monovalentes (como Na⁺ o K⁺) no se encuentran diferencias en la inactivación microbiana, mientras que si se añaden cationes divalentes (como Mg²⁺ o Ca²⁺) la inactivación es menos efectiva. Wouters et al. (1999) consiguieron más inactivación de *L. innocua* a valores de pH más bajos.

Contrariamente, Jeantet et al. (1999) consiguieron mejores resultados con *Salmonella enteritidis* a pH más altos, pero según Sale y Hamilton (1967 y 1968) y Hülshager et al. (1981) no tuvo influencia en la inactivación de los microorganismos.

La temperatura es otro factor a tener en cuenta en el tratamiento, ya que a mayor temperatura mejor es el efecto de inactivación de microorganismos (Zhang et al., 1994).

8.7 Campos magnéticos oscilantes

Existen diferentes tipos de campos magnéticos. Los campos estáticos son aquéllos cuya fuerza es constante en el tiempo, y pueden ser producidos con magnetos permanentes o con electromagnetos de corriente directa. Los OMF son generados mediante electromagnetos de corriente alterna, y su intensidad varía de manera periódica dependiendo de la frecuencia y del tipo de onda de magneto. Estos campos, generados por pulsos, son de naturaleza electromagnética asociados con un componente de campo eléctrico capaz de inducir corrientes eléctricas en sistemas biológicos estacionarios (KOVACS et al., 1997). Los campos homogéneos son aquéllos cuya fuerza es constante en el espacio al cual se exponen las muestras; mientras que los campos heterogéneos son aquéllos que presentan un gradiente que depende de la naturaleza del magneto.

La fuerza del campo magnético (H) se mide en Oersteds, unidad definida como una línea de fuerza por cm²; mientras que la densidad de flujo magnético (B) se mide en Teslas (o Gauss). En el vacío, y para propósitos prácticos en el aire, la fuerza del campo magnético es aproximada por la densidad de flujo magnético; de manera que la fuerza del campo magnético es comúnmente especificada en unidades de Teslas o Gauss.

Con respecto a su fuerza relativa, los campos magnéticos débiles tienen intensidades del orden de decenas de Gauss, semejantes a aquéllos producidos por aparatos electrodomésticos. Los OMF de alta intensidad se encuentran en miles de Gauss y mayores.

La inactivación de microorganismos requiere el uso de OMF de alta intensidad, 5-50 Teslas (1 Tesla=10.000 Gauss). Dichos campos pueden ser generados mediante el uso de bobinas superconductoras, bobinas que producen campos de corriente directa, y bobinas energizadas por la descarga de energía almacenada en un capacitor.

8.7.1 Fundamento

En esta tecnología, el alimento envasado en un material plástico, se somete a un campo magnético oscilante de intensidad entre 5 y 50 teslas (1000 veces superior al campo magnético de la tierra) y una frecuencia entre 5 y 500 kHz. Se han ensayado tratamientos de 1 a 100 pulsos de 25 μ s a 10 ms. La temperatura durante el procesado se mantiene entre 0 °C y 50 °C (10). El efecto conservador se debe, fundamentalmente, a dos fenómenos: (a) A la ruptura de la molécula de ADN y de ciertas proteínas, y (b) a la rotura de enlaces covalente en moléculas con dipolos magnéticos.

Los alimentos más idóneos para someterse a este proceso de conservación son: zumos, mermeladas, frutos tropicales en soluciones azucaradas, derivados cárnicos, productos cocidos, envasados y listos para su consumo (Herrero et al., 2006).

El magnetismo puede ser un método alternativo de conservación de la leche, pues demostró extender el tiempo de preservación hasta 16 horas en régimen de temperatura de 25 °C y leche con alto contenido bacteriano (Aguar et al., 2007).

8.7.2 Equipo

El Magneform Serie 7000TM (Maxwell Laboratory, San Diego, Calif.) es un instrumento que utiliza la energía almacenada en capacitores para generar el campo "magnético. El capacitor es cargado a partir de una fuente.

Una vez que se cierra el interruptor y se completa el circuito que incluye el capacitor y la bobina, se genera una corriente oscilante entre las placas del capacitor, la cual genera un campo magnético oscilante. La frecuencia del OMF es determinada por la capacitancia del capacitor y la resistencia e inductancia de la bobina. Conforme la corriente cambia de dirección, el campo magnético cambia su polaridad. La corriente oscilante, y en consecuencia el campo magnético, se deterioran rápidamente, disminuyendo su intensidad a un pequeño porcentaje de la intensidad original después de aproximadamente diez oscilaciones (POTHAKAMURY et al., 1993).

8.7.3 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios

Inactivación de microorganismos Los resultados reportados hasta ahora sobre el efecto que los campos magnéticos ejercen en microorganismos y en otros sistemas biológicos son contradictorios. Diferencias en las condiciones experimentales tale como la intensidad y duración de la exposición, temperatura, pH, etc. han dado lugar a resultados inconsistentes y a la imposibilidad de replicar los experimentos.

Han sido propuestas diversas teorías (BLACKMAN et al.,1994, UBOFF, 1985) con el fin de esclarecer el mecanismo de acción de los OMF sobre sistemas vivientes. Sin embargo, ninguna de ellas ha sido generalmente aceptada.

VAN NOSTRAND et al. (1967) estudiaron la influencia de un OMF de alta intensidad a diferentes presiones osmóticas y temperaturas en la multiplicación de *S. cerevisiae*, y observaron que la presencia del campo magnético ejerce un efecto inhibitorio en el crecimiento de los microorganismos para cada una de las temperaturas estudiadas.

MOORE (1979) estudió los efectos biológicos de campos magnéticos en cuatro bacterias y una levadura, encontrando que el crecimiento de dichos microorganismos fue afectado por el campo magnético utilizado. Las dos bacterias gram negativo, *Pseudomonas aeruginosa* y *Halobacterium halobium*, mostraron un mayor estímulo en su crecimiento que las dos bacterias gram positivo, *B. subtilis* y *Staphylococcus epidermidis*, o que *C. albicans*. La máxima estimulación ocurrió a 0.015 Teslas y la máxima inhibición se presentó a 0.030 Teslas. El efecto inhibitorio en el crecimiento microbiano fue atribuido a una disminución en la velocidad de multiplicación en algunas o todas las células del cultivo.

NAKAMURA et al. (1997) demostraron que un campo magnético no homogéneo tiene un efecto significativo en la supervivencia de células de *B. subtilis* MI 113, especialmente en la fase estacionaria, donde la población microbiana se compone de células vegetativas y esporas. En esta fase, un derto

porcentaje de dichas células es rápidamente transformado en esporas cuyo número difícilmente cambia con el tiempo.

Por lo tanto, la reducción en el número de células se atribuye principalmente a una autólisis de las células vegetativas. Sin embargo, la presencia de un campo magnético no homogéneo reduce la velocidad de disminución en el número de células vegetativas. Un efecto similar fue observado para *E. coli*, la cual sólo existe como célula vegetativa (TSUCHIYA et al., 1996).

En cuanto a inactivación de microorganismos en alimentos existen los resultados reportados por HOFMANN (1985) en su patente (U.S. 4,524,079), quien logró una reducción de 25 000 células/ml a 970, para *Streptococcus thermophilus* en leche. La concentración de *S. cerevisiae* en yoghurt, tratada con 10 pulsos, fue reducida de 3500 células/ml a sólo 25. En jugo de naranja, este mismo microorganismo se redujo, con la aplicación de un sólo pulso, de 25 000 células/ml a 6, y el contenido de esporas de hongo en una masa para roles fue reducido de 3000 esporas/ml al 1 con la aplicación de un sólo pulso.

8.8 Ultrasonidos

Los ultrasonidos pueden definirse como ondas acústicas inaudibles de una frecuencia superior a 20 kHz. De acuerdo a los intervalos de frecuencia se dividen en: ondas ultrasónicas de baja frecuencia (18-100 kHz; $\lambda=145\text{mm}$) y alta intensidad (2-10 MHz), cabe señalar que para la conservación de los alimentos, son más eficaces los de baja frecuencia.

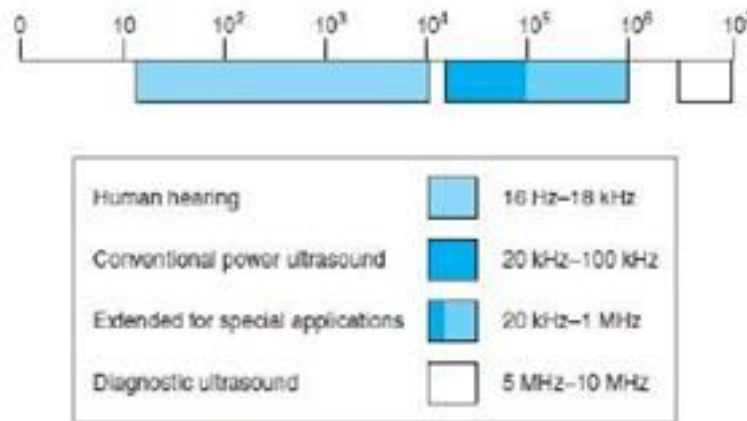


Figura 10 Frecuencia en los rayos de onda

8.8.1 Fundamento

Los equipos de ultrasonidos utilizados, de funcionamiento discontinuo (los más habituales) o continuos, presentan una cámara de tratamiento donde se sitúa la fuente de ultrasonido (generalmente una onda de zonificación). Toda la tecnología actual ultrasónica proviene del aprovechamiento de dos propiedades que poseen ciertos materiales: piezoelectricidad y la magnetoestricción.

El ultrasonido es generado por una corriente eléctrica que es transformada a energía de sonido por medio de diferentes tipos de transductores; existen tres tipos de transductores ultrasónicos principales:

8.8.2 Equipo

1. Transductores conducidos por líquidos; son aquellos en los que un líquido es forzado a atravesar por una lámina muy delgada usando que la lámina vibre. Para cada momento de vibración la cara principal de la lámina produce una presión de onda mientras que la cara posterior genera cavitación en el líquido. Esta generación continua de presión y cavitación del líquido da una fuente de energía muy grande, con lo que se genera ondas de sonido.

2. Transductores de magneto rígida o magnetoestrictivos; son dispositivos electromagnéticos que utilizan materiales ferromagnéticos, es decir materiales que cambien de tamaño como respuesta a la presencia de un campo

magnético, dos grandes desventajas: que el intervalo está restringido por debajo de 100 MHz y que los sistemas son 60% eficaces eléctricamente.

3. Transductores piezoeléctricos, son los más utilizados para la generación de ultrasonidos, utilizan cerámicas que contienen materiales piezoeléctricos como el titanio de bario o metaniobato de plomo. Los transductores cerámicos son muy quebradizos, por lo que se sujetan entre bloques metálicos. Esto sirve para proteger el delicado material cristalino, así como para prevenir que se sobrecaliente.

El efecto conservador de los ultrasonidos está asociado a los fenómenos complejos de cavitación gaseosa, que explican la generación y evolución de microburbujas en un medio líquido. La cavitación se produce en aquellas regiones de un líquido que se encuentran sometidas a presiones de alta amplitud que alternan rápidamente. Durante la mitad negativa del ciclo de presión, el líquido se encuentra sometido a un esfuerzo tensional y durante la mitad positiva del ciclo experimenta una compresión. El resultado es la formación ininterrumpida de microburbujas cuyo tamaño aumenta miles de veces (se expanden) en la alternancia de los ciclos de presión. Las microburbujas que alcanzan un tamaño crítico implosionan o colapsan violentamente para volver al tamaño original. La implosión supone la liberación de toda la energía acumulada, ocasionando incrementos de temperatura instantáneos y focales, que se disipan sin que supongan una elevación sustancial de la temperatura del líquido tratado. Sin embargo, la energía liberada, así como el choque mecánico asociadas al fenómeno de implosión, afectan la estructura de las células situadas en el microentorno. No obstante, el efecto de los ultrasonidos sobre los agentes alterantes de los alimentos es limitado y dependiente de múltiples factores por ello, su aplicación se ha encaminado hacia la combinación, simultánea o alterna, con otras técnicas de conservación. La aplicación de ultrasonidos y tratamientos térmicos suaves (<100 °C, habitualmente entre 50 -60 °C) ha dado lugar al procedimiento denominado termoultrasonificación. La combinación con incrementos de presión (< 600 MPa) se denomina manosonicación, mientras que las tres estrategias de forma conjunta se conocen como manotermosonicación (4; 5).

8.8.3 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios

La manosonicación y la manotermosonicación son particularmente eficaces en la esterilización de mermeladas, huevo líquido, y en general, para prolongar la vida útil de alimentos líquidos. La ultrasonicación de forma aislada es eficaz en la descontaminación de vegetales crudos y de huevos enteros sumergidos en medios líquidos. Con fines distintos a la conservación, se ha utilizado con éxito en el ablandamiento de las carnes. Más conocido y extendido es la utilización de ultrasonidos en sistemas de emulsificación y homogenización así como en la limpieza de distintos equipos (4; 5).

Ondas ultrasónicas de baja energía (100 kHz – 1 MHz) se utilizan para evaluar las características y la calidad de diversos productos. En este campo se encuentra el diseño de distintos equipos para determinar el tiempo óptimo de curado de quesos y estandarizar las características del producto comercializado, así como sistemas para evaluar el contenido graso, *in vivo* o *post-mortem*, de estructuras musculares y la composición y textura de productos concretos (por ejemplo, sobrasada, 6; 7). (Knorr et, al., 2006).

La combinación de ultrasonidos con calor o presión inactiva microorganismos y enzimas especialmente resistentes al calor. Estas combinaciones han resultado ser muy útiles en la inactivación de microorganismos y enzimas especialmente resistentes al calor. La manosonicación y la manotermosonicación pueden ser particularmente eficaces en la pasterización y esterilización de mermeladas, salmueras o huevo líquido, y para la descontaminación de vegetales crudos.

Se han realizado estudios sobre la aplicación de la manotermosonicación al procesado de leche y zumo de naranja y se ha observado que, en general, la calidad nutritiva de estos alimentos no se ve significativamente afectada. Este mismo proceso se ha empleado en el tratamiento de leche destinada a la elaboración de yogur, comprobándose que los yogures obtenidos presentaban una adecuada consistencia y viscosidad (Torres, 2005).

8.9 Luz blanca de alta intensidad

La aplicación de pulsos de luz blanca de alta intensidad es un tratamiento limitado a la superficie de los productos, que puede utilizarse para la pasteurización de líquidos transparentes y alimentos envasados en materiales transparentes. También puede aplicarse para la esterilización de superficies de materiales y equipos. El espectro de luz utilizado incluye longitudes de onda desde el ultravioleta lejano (200nm) hasta la región del infrarrojo cercano (1100nm). La distribución del espectro es un 25% ultravioleta, 45% luz visible y 30% infrarrojo. La intensidad de los pulsos varía entre 0.01 y 50 J/cm² (aproximadamente unas 20.000 veces superior a la radiación solar sobre la superficie terrestre). La duración de cada pulso es de 200- 300 ms y la frecuencia es de 1 a 20 s⁻¹.

Este tratamiento produce cambios fotoquímicos y fototérmicos.

Los primeros originan modificaciones en el ADN, en las membranas celulares y en los sistemas de reparación y enzimáticos. Los segundos producen un incremento de la temperatura momentáneo en la superficie tratada que, por la corta duración del pulso, no afecta a la temperatura global del producto.

8.9.1 Fundamento

La luz pulsada en general se produce usando tecnologías de ingeniería que multiplican el poder. Acumulan energía eléctrica en un condensador de almacenamiento de energía durante tiempos relativamente cortos (una fracción de segundos) y liberan esta energía almacenada para hacer un trabajo de un tiempo mucho más corto (millones o milésimas de segundo) magnificando el poder aplicado. El resultado es una potencia mayor durante el ciclo de trabajo, con un consumo moderado de energía.

Tomando en cuenta que sigue los siguientes pasos:

1. Energía eléctrica de baja intensidad es tomada de una fuente primaria.
2. Acumulada y temporalmente almacenada.

3. Rápidamente liberada y convertida en pulsos eléctricos de alta intensidad, los cuales después son:
4. Convertidos en pulsos luminosos de alta intensidad y finalmente son enviados a la muestra objetivo.

El sistema utiliza una lámpara de xenón que libera muy rápidamente la energía eléctrica en forma de luz a la superficie del producto que se encuentra en la cámara de tratamiento. Se componen por una superficie reflectante y las lámparas de Xenón, es semejante a un horno cualquiera.

8.9.2 Equipo

Los equipos utilizados presentan cámaras en las que destellan, con la frecuencia requerida, lámparas de gases (xenón o kriptón) de alta intensidad y eficacia. Productos tratados, con resultados bastante satisfactorios, son filetes y porciones de carne y pescado, gambas, carne de pollo y salchichas.



Figura 11 Cámara que destella luz blanca

8.9.3 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios

La luz que se trasmite con los pulsos son capaces de dañar el ADN de los microorganismos, proteínas y producir la ruptura de las membranas celulares.

Todo ese daño dependerá de la frecuencia y duración de los pulsos de luz, la longitud de onda de la luz utilizada y distancia al producto a tratar.

Efectos en los microorganismos y en los componentes del alimenticios.

Se ha comprobado que el proceso es efectivo en la inactivación de hongos en variedades de productos horneados. Camarones tratados con PL, almacenados y refrigerados permanecieron comestibles por siete días, mientras que camarones no tratados mostraron una degradación extensiva, decoloración, olores desagradables y no comestibles (Dunn y col., 1995). Barbosa-Cánovas y col. (1998) reportaron más de siete ciclos logarítmicos de reducción en la inactivación de esporos de *Aspergillus niger* tratados con PL. Una gran variedad de microorganismos incluyendo *E. coli*, *S.*

aureus, *B. subtilis* y *S. cerevisiae* han sido inactivados utilizando 1 a 35 pulsos de luz con una intensidad entre 1 y 2 J/cm². Con el proceso "Pure Bright" de PL la *salmonella* pudo ser reducida a dos ciclos logarítmicos en muestras de alas de pollos inoculadas con 5 ó 2 log/cm². La listeria también fue reducida a dos ciclos logarítmicos en salchichas (inoculadas con 3 ó 5 log/wiener) después del tratamiento con PL (Barbosa-Cánovas y col., 1998).

Cuajadas comerciales de queso seco (cottage) inoculadas con *pseudomonas* y tratadas con PL con una energía de densidad de 16 J/cm² y una duración de pulso de 0,05 ms redujo la población microbiana a 1,5 ciclos logarítmicos después de la aplicación de dos rayos de luz, y la temperatura en la superficie de la cuajada estaba 12 cercana a la fuente de luz y aumentó por 5°C (Dunn y col., 1991). Un panel de evaluación sensorial entrenado demostró que no había efectos en el sabor de los quesos tratados con PL. Una combinación de alta presión y exposición a PL redujo las de la superficie de tejidos de pescados a tres ciclos logarítmicos. Las muestras de pescado permanecieron sensorialmente aceptables después de quince días de almacenadas en refrigeración (Dunn y col., 1988).

Los pulsos de luz han sido muy efectivos en la eliminación de la contaminación microbiana de la superficie de cascaras de huevo. Hasta ocho logaritmos de reducción han sido obtenidos sin encontrar diferencias entre huevos comerciales y huevos crudos. En la superficie de diferentes materiales de empaque un simple pulso de luz inactivó *S. aureus* con una cantidad de energía tan pequeña como 1,25 J/cm² mientras que esporos de *B. cereus* y *Apergillus* fueron inactivadas con una energía de densidad mayor a 2 J/cm² (Barbosa-Cánovas y col., 1998).

En resumen se piensa que la intensidad de la energía de luz pulsada amplifica los mecanismos conocidos de destrucción de los componentes celulares causado por el amplio espectro de la luz puede producir un daño irreversible

Extenso al ADN, proteínas y otras macromoléculas. (Barbosa-Canocas, 2005).

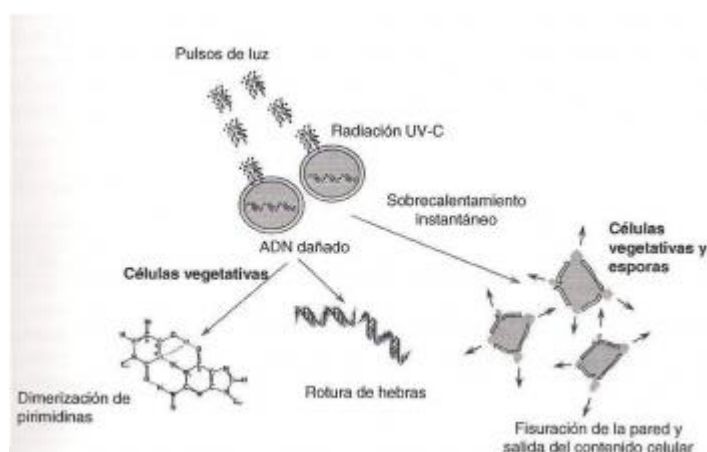


Figura 12 Desnaturalización de proteínas

9 Aplicación tecnológica de las enzimas

Las enzimas son catalizadores muy potentes y eficaces, químicamente son proteínas como catalizadores, las enzimas actúan en pequeña cantidad y se recuperan indefinidamente. No llevan a cabo reacciones que sean energéticamente desfavorables, no modifican el sentido de los equilibrios químicos, sino que aceleran su consecución (García, *et al.*, 2002).

Catalizador

Un catalizador es una sustancia que acelera una reacción química, hasta hacerla instantánea o casi instantánea. Un catalizador acelera la reacción al disminuir la **energía de activación**.

9.1 Características de la acción enzimática

La característica más sobresaliente de las enzimas es su elevada especificidad. Esta es doble y explica que no se formen subproductos:

1. **Especificidad de sustrato.** El sustrato (S) es la molécula sobre la que el enzima ejerce su acción catalítica.
2. **Especificidad de acción.** Cada reacción está catalizada por una enzima específica.

La acción enzimática se caracteriza por la formación de un complejo que representa el estado de transición.

El sustrato se une al enzima a través de numerosas interacciones débiles como son: puentes de hidrógeno, electrostáticos, hidrófobos, etc., en un lugar específico, el **centro activo**. Este centro es una pequeña porción de enzima, constituido por una serie de aminoácidos que interaccionan con el sustrato.

Algunas enzimas actúan con la ayuda de estructuras no proteicas. En función de su naturaleza se denominan:

1. **Cofactor.** Cuando se trata de iones o moléculas inorgánicas.
2. **Coenzima.** Cuando es una molécula orgánica. Aquí se puede señalar, que muchas vitaminas funcionan como coenzimas; y realmente las deficiencias producidas por la falta de vitaminas responde más bien a que no se puede sintetizar un determinado enzima en el que la vitamina es el coenzima (Yúfera, 2003).

Efecto del Ph y temperatura

1. **Efecto del pH.** Al comprobar experimentalmente la influencia del pH en la velocidad de las reacciones enzimáticas se obtienen curvas que indican que los enzimas presentan un pH óptimo de actividad. El pH puede afectar de varias maneras:

- El centro activo puede contener aminoácidos con grupos ionizados que pueden variar con el pH.

- La ionización de aminoácidos que no están en el centro activo puede provocar modificaciones en la conformación de la enzima.

- El sustrato puede verse afectado por las variaciones del pH.

Algunos enzimas presentan variaciones peculiares. La **pepsina** del estómago, presenta un óptimo a pH=2, y la **fosfatasa alcalina** del intestino un pH= 12.

2. **La temperatura.** Influye en la actividad. El punto óptimo representa el máximo de actividad. A temperaturas bajas, los enzimas se hallan "muy rígidos" y cuando se supera un valor considerable (mayor de 50) la actividad cae bruscamente porque, como proteína, el enzima se desnaturaliza.

9.1.1 Clasificación de enzimas

- Oxido-reductasas (Reacciones de óxido-reducción)
- Transferasas (Transferencia de grupos funcionales)
- Hidrolasas (Reacciones de hidrolisis)
- Liasas (Adición a los dobles enlaces)
- Isomerasas (Reacciones de isomerización)
- Ligasas (Formación de enlaces, con aporte de ATP)

Las enzimas son biocatalizadores pero también pueden considerarse como aditivo altamente específicos para aplicaciones alimentarias.

Si se considera que la enzimas microbianas son productoras de técnicas biotecnológicas y pueden, a su vez, ser empleadas en procesos enzimáticos

para la elaboración de materias primas o simplemente empleadas como aditivos, puede tenerse una idea del amplio espectro que ocupan las enzimas dentro de la tecnología alimentaria (García, *et al.*, 2002).

10 Candelilla

La cera de candelilla cabe recordar que se extrae de la planta silvestre *Euphorbia antisyphilitica* de la familia Euforbiáceas, es de estructura amorfa y su dureza es de un grado intermedio entre la de la cera de carnauba y la de la abeja. Está considerada como sustancia GRAS y sus usos en confitería y alimentos no tiene limitaciones más allá de las buenas prácticas de manufactura (Bosquez, 2000).

La planta crece normalmente en zonas de clima semi-desértico y presenta un aspecto similar al de los cactus, de quienes se diferencia con claridad por el látex lechoso que contiene la planta de Candelilla y es reconocida por la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA por sus siglas en Inglés), como una sustancia natural segura- GRAS, Generally Recognized As Safe- para su aplicación en la industria alimenticia, por lo cual es ampliamente utilizada en diversos sectores del ramo.

La planta de Candelilla se desarrolla casi exclusivamente en una región semi-desértica de Norteamérica, conocida como “El Desierto de Chihuahua”. La mayor extensión de este desierto se localiza en territorio mexicano y comprende regiones de los estados de Coahuila, Zacatecas, San Luis Potosí, Durango y Chihuahua, extendiendo sus fronteras hacia los Estados Unidos con los límites de Texas, Nuevo México y Arizona (Guerrero *et al.*, 2003).

La cera de Candelilla es una sustancia 100% natural, dura, quebradiza y fácil de pulverizar. Su color puede variar desde café claro hasta amarillo, dependiendo del grado de refinación y blanqueo. Su superficie puede alcanzar altos niveles de brillo, siendo ésta una de las propiedades más apreciadas en la cera de Candelilla para diversas aplicaciones de especialidad. Disuelve bien los colorantes básicos. Es insoluble en agua, pero altamente soluble en acetona, cloroformo, benceno y otros solventes orgánicos.

La mayoría de los constituyentes de la cera de Candelilla son componentes naturales que se encuentran en los vegetales y en las frutas. Su composición química se caracteriza por un alto contenido de hidrocarburos (alrededor del 50%) y una cantidad relativamente baja de ésteres volátiles. Su contenido de resina puede llegar hasta 40% en peso, lo cual contribuye a sus propiedades adhesivas. Puede endurecer otras ceras sin aumentar significativamente el punto de fusión de la mezcla (Real, 2003).

La explotación comercial de la planta de Candelilla, para la producción de cera, se remonta a los primeros años del siglo XX, llegando a convertirse en una de las principales actividades económicas en el sector Mexicano del Desierto de Chihuahua. Alrededor de este recurso, gira la actividad de más de 3,500 pequeños productores de cera, conocidos local y nacionalmente con el nombre de "Candelilleros". Para algunos de estos ejidatarios, sus ingresos se complementan con el producto de la recolección de otras especies nativas del desierto, la agricultura, la ganadería e incluso la minería.

El método de explotación y distribución de la planta de Candelilla es muy rudimentario. Los recolectores se trasladan en burros o en camiones hacia las zonas donde la Candelilla puede encontrarse en abundancia y recogen todas las plantas que encuentran en el área, antes de desplazarse a otros campos cercanos.

Normalmente, la planta de Candelilla se arranca manualmente, con todo y raíz, pudiendo también utilizarse un madero afilado como herramienta que facilite la extracción de la planta. Posteriormente, se preparan pacas de 20-30 kg de planta de Candelilla libre de impurezas (tierra, piedras, hierba seca, etc.), las cuales son transportadas utilizando los animales de carga (normalmente, cada burro puede transportar entre 60 y 90 kg de carga), o bien, camiones de redilas. La hierba recolectada se concentra en centros de acopio, donde se llevará a cabo el proceso de extracción de la cera.

10.1 Método de Extracción

Extracción de cera

Para la extracción de la cera, la planta de Candelilla se coloca en calderos de hierro llamados “pailas” por los Candelilleros con agua acidificada con ácido sulfúrico.

La carga de Candelilla inmersa en la solución agua-ácido se calienta mediante fuego directo hasta el punto de ebullición de la solución, ocurriendo así la fusión de la cera en el baño y su separación de la planta. El ácido sulfúrico evita la formación de una emulsión entre la cera de Candelilla y el agua, la cual podría generarse dadas las condiciones de turbulencia creadas por el proceso de ebullición. Mediante esta técnica, la cera de Candelilla fundida flota en la superficie del agua en forma de espuma.

La cera espumosa caliente se retira de la “paila” mediante utensilios con orificios ó “espumaderas”, para ser recogida en tanques de acero, cubetas, agujeros cónicos en el piso ó en moldes de barro, que se colocan al nivel del piso. En cualquiera de estos recipientes, la espuma caliente (cera) se separa por decantación de un licor pardo que precipita hacia el fondo del recipiente y que es posteriormente reciclado a la “paila” de extracción.

En la parte intermedia del recipiente, justo encima de la fase acuosa, se forma una capa de fina crema de color amarillo que constituye la cera de Candelilla, a la cual se le conoce con el nombre de “cerote”. En la parte superior del recipiente se forma una tercera capa, la cual consiste de una pasta formada por cenizas, burbujas e impurezas sólidas. Las plantas escaldadas por la ebullición sirven como combustible para la paila, una vez secadas al sol.

El cerote se deja enfriar para solidificar a temperatura ambiente. La cera endurecida se quiebra en pedazos mediante golpes de martillo y los trozos se funden para que liberen las impurezas de tierra y materia orgánica, las cuales son finalmente separadas de la cera por sedimentación. La cera decantada

libre de impurezas sólidas conocida como “cera de Candelilla cruda” se deja enfriar y solidificar nuevamente (Whitaker, 1941).

Para refinar la cera es necesario quebrarla nuevamente en trozos, fundirla y filtrarla a través de tierras de Fuller, carbón activado, o de algunos otros medios filtrantes. La refinación puede incluir un paso de blanqueo, efectuado con peróxido de hidrógeno, ó algunas otras etapas de refinación para aplicaciones especiales.

(% Peso)	Cruda	Refinada
Hidrocarburos	46	57
Alcoholes libres	13	14
Ácidos libres	7	7
Ésteres simples	2	21
Ésteres hidroxilados	8	8
Ésteres ácidos	10	0
Diésteres	9	0

Tabla 13 Composición Típica de la Cera de Candelilla. Real, 2003.

	Cruda	Refinada
Valor de acidez	12-24	12-22
Valor de yodo	19-45	14-27
Número de saponificación	43-65	35-87
Punto de fusión	66-71 °C	67-79 °C
Índice de refracción	1.456 @ 71 °C	1.4545-1.462 @ 85 °C
Material no saponificable	65-67	67-77
Gravedad específica	0.982	0.885
Punto de flama	241 °C	-----

Tabla 14 Propiedades Fisicoquímicas de la Cera de Candelilla. Real, 2003.

La prioridad principal de los empaques es la preservación y protección de todo tipo de productos, siendo los alimentos y las materias primas el campo de mayor prioridad. Estos productos requieren atención dada la contaminación generada por microorganismos (bacterias, esporas, hongos, etc.) durante la manipulación (Tharanathan, 2003).

Los retos técnicos involucrados en producir alimentos y conservarlos con calidad estable, indican que el uso de este tipo de recubrimientos y películas será mayor de lo que actualmente es. Sin embargo, a pesar de que la información técnica disponible para la elaboración de películas comestibles es amplia, no es universal para todos los productos, lo que implica un reto para el desarrollo de recubrimientos y películas específicas para cada alimento. En el caso particular de frutas y hortalizas para consumo en fresco, los recubrimientos comestibles proporcionan una cubierta protectora adicional cuyo impacto tecnológico es equivalente al de una atmósfera modificada, por lo tanto representan una alternativa a este tipo de almacenamiento (Park, 1999).

10.1.1 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios

Resultados

Se realizó una análisis en un lote de limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) provenientes de la región de Apatzingo, Michoacan, encontrándose que el color predominante era verde claro con trazas amarillas (3, dentro de la escala utilizada), además de representar un porcentaje de acidez de 6.71% y una concentración de azúcar de 7.8^a Brix; mostrando características óptimas para su consumo.

Para esto se probaron recubrimientos de cera de candelilla y goma de Mezquite, (1:1; 2:1) a temperaturas de (4 y 7°C) observándose que el tipo de recubrimiento tiene una influencia marcada sobre la pérdida fisiológica de peso del limón Mexicano, encontrándose que los frutos tratados con la formulación elaborada a base de Mezquite y la Mezcla lipídica de Candelilla-aceite mineral 1:1 (MCAM 1:1), presentaron un mejor estabilidad en comparación a los otros tres recubrimientos (menor de $p < 0.05$), a las dos temperaturas estudiadas, por lo que queda demostrado que la proporción de la mezcla lipídica tiene efecto significativo sobre la efectividad que puede aportar la formulación en permitir menor pérdida de peso en el limón Mexicano (Dominguez et al., 2003).

Durante el manejo postcosecha, las frutas y hortalizas a menudo son tratadas con ceras o cubiertas comestibles. Estos compuestos dan a los frutos apariencia lustrosa y agradable, además que pueden producir otros como el de reducir la respiración, la pérdida de agua y el marchitamiento de los frutos. Las cubiertas comestibles son comúnmente llamadas “ceras”.

La aplicación de ceras a nivel comercial probablemente se inició en la industria citrícola con el objeto de mejorar la apariencia de los frutos, aunque en la actualidad el encerado es una práctica común de muchos productos hortofrutícolas. Entre las hortalizas a las que se les aplica cera se encuentran principalmente: tomates, Chiles, Berenjenas, Pepinos, Camotes, Melones entre otros.

Entre los principales microorganismos que causan daños a las frutas y hortalizas, son causadas por especies de hongos como: *alternaría*, *Botrytis*, *Diplodia*, *Monilinia*, *Penicillum*, *Phomopsis*, *Rhizopus* y *Sclerotina*, y por las bacterias: *erwinia* y *pseudomonas*. Muchos de estos microorganismos son patógenos débiles ya que solo pueden invadir productos dañados, algunos tales como *Colletotrichum*, son capaces de penetrar la cascara de productos sanos.

Frecuentemente la relación entre el hospedero (Fruto u Hortaliza), y el patógeno es razonablemente específico, por ejemplo: *Penicillium digitatum* pudre solamente cítricos y *P. expansum* pudre a las manzanas y peras, pero o cítricos.

11 Orégano

Las hierbas y especias como el orégano son también una fuente potencial de vitamina C y de otros compuestos antioxidantes como los carotenoides.

El efecto antioxidante de las plantas aromáticas se debe a la presencia de grupos hidroxilo en los compuestos fenólicos.

El orégano tiene una buena capacidad antioxidante y antimicrobiana contra microorganismos patógenos como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, entre otros. Estas características son muy importantes para la industria alimentaria ya que pueden favorecer la inocuidad y estabilidad de los alimentos como también protegerlos contra alteraciones lipídicas. Existen además algunos informes sobre el efecto antimutagénico y anticarcinogénico del orégano sugiriendo que representan una alternativa potencial para el tratamiento y/o prevención de trastornos crónicos como el cáncer (Arcila, 2004).

Clasificación del orégano

OROS. Montaña; GANOS: alegría, se caracteriza por ser una planta caducifolia.

En México principalmente pertenecen al género *lippia* de la familia Verbenaceas, siendo todas ellas silvestres, se distribuyen en casi todos los

estados de la república pero fundamentalmente en regiones Áridas y Semiáridas.

FAMILIA	GENERO	ESPECIE	DISTRIBUCION
Verbanaceae	Lippia	Berlandieri Schauer	Chihuahua, Coahuila, Tamaulipas, Veracruz, Sinaloa, zacatecas, Jalisco.
Verbanaceae	Lippia	Graveolens H.B.K.	Yucatán, Campeche.

Tabla 15 Clasificación del Orégano. Fuente: López, 2007.

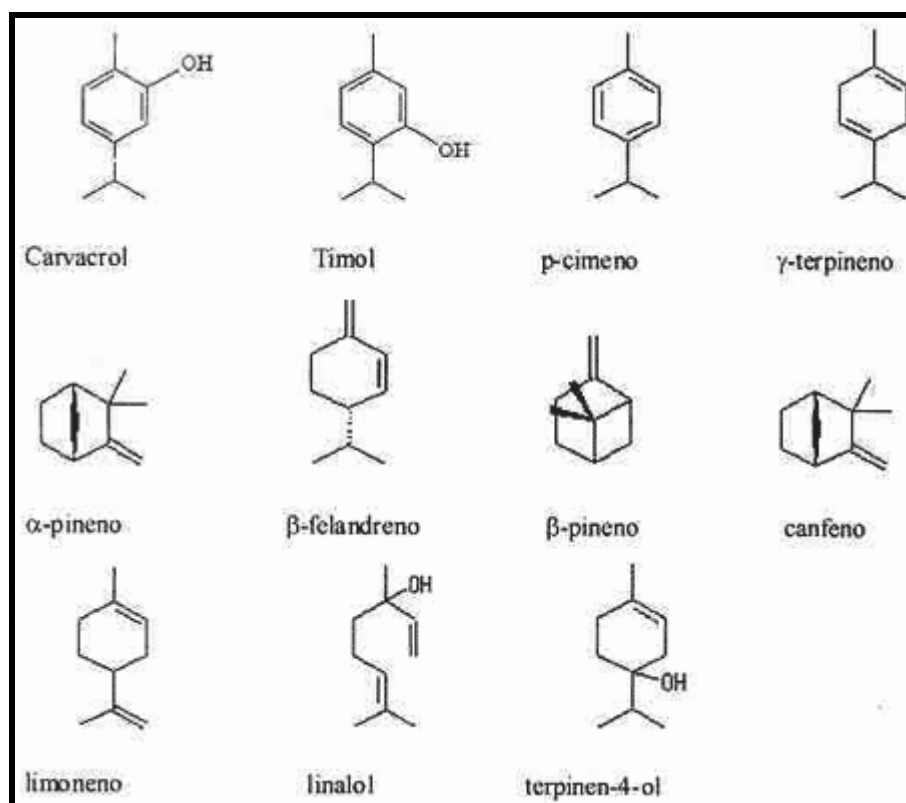


Figura 13 Estructura química de los principales componentes en orégano. Antimicrobial capacity of Mexican Orégano, 2002.

Especificaciones	Máximo
Humedad en %	10.0
Cenizas en %	9.0
Cenizas, insolubles en ácido en %	1.0
Fibra cruda en %	20.0
Aceites volátiles en %	3.0

Tabla 16 Especificaciones físicas y químicas. NMX-F-1983.

Origen del Orégano

Los estados de mayor producción Coahuila, Chihuahua, Tamaulipas y Durango y del mundo E.U.A. Grecia Turquía y México.

Los climas donde se desarrolla el Orégano son muy variados: secos, desérticos muy cálidos, semicalidos húmedos, templados subhúmedos. (Antonio, 1998.)

Esta planta recientemente ha adquirido importancia económica debido a que 90% de la producción de su materia seca útil es exportada a Estados Unidos de Norteamérica y en menor grado a Italia y a Japón.

Se estima que en 2002, las exportaciones de orégano seco no manufacturado con destino a los Estados Unidos fue de 6'648,313 kilogramos; México participó con una cantidad de 2'143,377, sólo por debajo de Turquía.

El costo promedio de la hoja seca de orégano por kilo es de 8.00 a 9.00 pesos. Durante la cosecha 2002, productores del semidesierto de Querétaro lo

vendieron hasta en 11.00 pesos, el precio históricamente más alto pagado a colectores de orégano en México.

11.1 Método de extracción del Orégano

Los aceites esenciales son metabolitos secundarios de las plantas por lo que un metabolismo más activo puede asociarse con una mayor producción de aceites (Wilkins, 1998). En un aceite esencial pueden encontrarse hidrocarburos alicíclicos y aromáticos, así como sus derivados oxigenados (alcoholes, aldehídos, cetonas y ésteres), sustancias azufradas y nitrogenadas. Los compuestos más frecuentes se deberían de la ruta del ácido mevalónico y se les clasifica en monoterpenoides y sesquiterpenoides (Wagner, 2003).

Algunos autores señalan que la gran variabilidad en la composición química de los aceites esenciales es debida, sobre todo, al origen del material más que a la influencia del medio ambiente. Otros autores otorgan un papel más preponderante al medio ambiente, sobre todo en lo referente a densidad de planta sembrada, estación del año en el corte y a la cantidad de agua usada en el riego, o incluso a la cantidad de agua artificial o natural usada en el cultivo de la planta en invernadero (Putiesky, 1996).

a) Arrastre con Vapor

Arrastre por vapor, el cual consiste en exponer el producto a un flujo de vapor de agua que extrae los compuestos de interés. Obteniendo así, cinco fracciones, con diferentes concentraciones de timol y carvacrol.

Ejemplo de extracción de aceite esencial de orégano

1. Vierte 10 litros de agua limpia destilada en el hervidor y agrega las hojas de orégano frescas o secas. Cuando el hervidor esté lleno de hojas, coloca la columna superior del destilador en él. Todas las líneas de agua deben estar conectadas al condensador.
2. Proporciona una fuente de calor para el destilador de vapor y garantiza que el tubo de recogida esté dirigido hacia el recipiente receptor. Cuando el agua en el hervidor de agua esté a temperatura de ebullición, inicia el flujo de

agua enfriada para exprimir el aceite y el vapor de agua, a continuación, permite que fluya al condensador.

3. Comprueba que el aceite esencial sale del condensador de vapor de destilación y que hay un flujo constante de agua enfriada para reducir el vapor. Permite que el aceite destilado se enfríe a una temperatura tibia.

4. Recoge la mezcla destilada en pequeñas cantidades y cambia el recipiente receptor después de cada 500 ml o dos tazas. Esto asegura que el aceite recogido mantenga una alta calidad. Si se deja demasiado tiempo, la calidad del aceite extraído caerá rápidamente durante las últimas etapas de destilación. Ve el nivel de agua en el hervidor de manera que las hojas de orégano no se quemen en el fondo de éste.

5. Revisa la reducción en la calidad del aceite de orégano si se han recogido 8 litros de agua destilada y la mezcla de aceite. Apaga el fuego y retira el destilador cuidadosamente con guantes de cocina. Las asas se calientan a temperaturas extremas durante el proceso de destilación.

6. Cubre el aceite y sé paciente hasta que el aceite se separe del agua. Sin embargo, el aceite podría aparecer turbio después de este proceso, así que permite que el contenedor receptor permanezca inactivo para dejar tiempo suficiente para que el aceite se separe del agua. Este proceso puede tardar varias horas, pero quedará un líquido transparente. Éste es el aceite.

7. Separa el aceite del agua mediante el uso de una taza de medición que incluya un separador o bien utiliza un recipiente de plástico transparente y añade un pequeño tubo de desagüe. Espera a que el agua y el aceite se separen en el recipiente antes de drenar el agua lentamente a través de la manguera de drenaje pequeña.

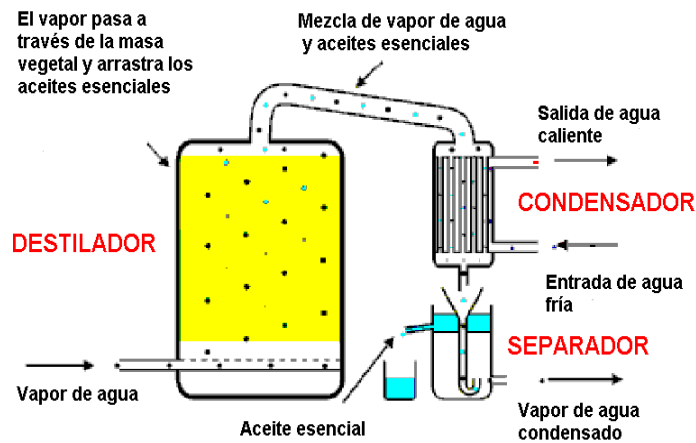


Figura 14 Método de Extracción de arrastre con vapor

b) Extracción por medio de fluidos supercríticos

La extracción supercrítica es una operación unitaria de transferencia de masa que se efectúa por encima del punto supercrítico del solvente; esta extracción permite controlar y manipular propiedades tales como la difusividad, viscosidad y densidad del fluido mediante pequeños cambios de presión y temperatura, lo conlleva a una variación en la selectividad y el poder de solvencia de este (Gallego & Castañeda, 2003).

Compuesto extraído	Solvente	Condiciones de extracción		
		Presión MPa	T °C	Flujo
Extracto de romero (antioxidantes)	CO ₂	10 - 16	37 - 47	-
Carotenoides de paprika	CO ₂	>50	100	25 kg/h
Extracto de orégano (antioxidantes)	CO ₂ / 4% etanol	25	40	-
Vitamina E de germen de trigo	CO ₂	34,5	43	1,7 mL/min
Esteroles y tocoferoles del aceite de oliva	CO ₂	20	40	2 L/h
Flavonoides del jugo de naranja	CO ₂	16	40	2400 mL/h

Tabla 17 Condiciones ideales de extracción de ciertos compuestos por medio de fluidos supercríticos. Esquivel F, 2007.

Se ha encontrado que el secado inicial de la muestra tiene una gran influencia en la capacidad antioxidante de los extractos y que mediante la técnica de extracción por medio de CO₂ supercrítico, se logra extraer la mayoría de los compuestos fenólicos con poder antioxidante sin que estos se hayan degradado por el proceso; se encontró además que al variar las condiciones de extracción, se varía la cantidad de ácido carnosito, carnosol y metilcarnosato, lo cual genera una diferencia en el poder antioxidante del extracto (Señoráns et al., 2000).

11.2 Aceite esencial de Orégano

El principal producto derivado de la hoja de orégano es el aceite esencial, el cual tiene usos en las industrias licoreras, refresqueras, farmacéuticas y de cosmetología. Al igual que la hoja seca de orégano, el principal mercado del aceite esencial son Estados Unidos de Norteamérica, Italia y Japón. Éste se vende en un promedio de 170 dólares el litro, dependiendo de la calidad que tenga, la cual se mide por la presencia del carvacrol y timol.

El carvacrol es el componente de mayor valor y existe variación en los porcentajes de éste, debido principalmente a los diferentes tipos de suelo en donde se produce y aprovecha el orégano. La extracción del aceite de orégano se logra mediante el sistema de arrastre con vapor y destilación, en un equipo especial compuesto por una caldera o emisor de vapor, un contenedor donde se deposita la materia prima, dos tupos a lo largo que inyectan el vapor proveniente de la caldera, un condensador o intercambiador, donde se condensa la mezcla aceite esencial y agua, pasa a un embudo donde se separan por diferencias de densidades. Una planta con capacidad para 200 kilos de hoja seca de orégano produce 5 litros de aceite esencial; el tiempo empleado en este proceso es de aproximadamente 3 horas, con una mano de obra de 3 personas (CONAFOR, 2007).

Se calcula que en una tonelada de orégano produce 28 litros de aceite y cada litro puede venderse hasta en tres mil pesos (López et al., 2005).

Extractos de orégano

El uso de extractos de hojas de orégano como fuentes de antioxidantes naturales ha sido estudiado, para de esta manera poder evaluar la sustitución de antioxidantes sintéticos como son el BHT y BHA. En el estudio realizado por Cavero et al., (2006), se variaron condiciones de densidad del CO₂ utilizado como solvente junto con etanol, y se obtuvo que los compuestos antioxidantes (principalmente flavona-1) se separaron con las densidades más altas del solvente y presentaron una inhibición del β-caroteno en pruebas in vitro de hasta un 72% (Cavero et al., 2006), lo cual comprueba que por este método se pueden extraer compuestos antioxidantes con alta actividad que pueden ser utilizados como aditivos en otros alimentos ya que estos son bastante inodoros y de origen natural.

11.3 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios

En México, el uso del orégano es exclusivamente como condimento alimenticio y en poca medida medicinal, por lo que se desaprovechan sus propiedades organolépticas, ya que el aceite esencial de orégano es un potente fungostático, además de un excelente agente antibacterial que ataca a la mayoría de bacterias patogénicas como estreptococos, estafilococos. Controla parásitos y virus.

En Europa y Estados Unidos tiene un gran valor para la industria alimenticia e industrial (CONAFOR).

Aceite esencial de Orégano Mexicano como antioxidante

Resumen

El aceite esencial de orégano mexicano al ser utilizado como antioxidante natural en dos sistemas alimenticios: aceite de oliva y aceite de soya sin refinar mostró un efectividad en la reducción de la oxidación reflejada en sus valores de

peróxido, especialmente en el aceite de oliva; así como una ligera reducción en el porcentaje de ácidos grasos libres en ambos sistemas. La actividad antioxidante también es en función de la concentración de las especies activas especialmente la Fracción 1 al 0.3%, que esta principalmente constituida por carvacrol compuesto al que se le atribuye la actividad antioxidante (Chaquilla, 2008).

Aceite esencial de Orégano (*lippia berlandieri schauer*) como antimicrobiano

Metodología

Se evaluaron tres fracciones de aceite de orégano (fracción uno alto carvacrol 38.25%, fracción dos alto timol 77.40% y fracción tres 27.67% timol y 11.31% carvacrol). Se prepararon tubos por triplicado con 6 ml de caldo TSB en mezcla con aceite de orégano a concentraciones de 0.00, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.50% y con 0.6 ml de inóculo correspondiente al tubo 4 de la escala Mc Farland (3), los tubos se incubaron a 37° C, las lecturas se tomaron en unidades de absorbancia por espectrofotometría a 450 nm cada 12 hr por 60 hr, para cada fracción de aceite de orégano con cada microorganismo. (Rangel, 2007).

Conclusión

Los resultados fundamentan la presencia de propiedades antimicrobianas en el aceite esencial de orégano ya que demostró inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos anaerobios alimentarios *C. perfringens* y *B. cereus*, siendo la mejor fracción inhibitoria la 2 en concentraciones de 0.5, 0.20, 0.15 y 0.10%.

Efecto antioxidante de romero *rosmarinus officinalis* L.) y de Orégano Mexicano y (*lippia* spp)

Metodología

Los extractos etanólicos de romero, salvia y orégano seco se incorporaron en forma separada en concentración de 0.02% p/p a pastas cárnicas cuya

composición fue carne cruda de cerdo, lardo, agua, cloruro de sodio, fosfato de potasio y un emulsificante comercial; el almacenamiento fue a 4°C durante 72 horas.

Se realizó la cuantificación de fenoles totales (mg/mL extracto) (1), la separación de los ácidos rosmarínico y carnósico (mg/g extracto) (2) y sustancias reactivas con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) (mg/kg pasta) (3) cada 24 horas.

Resultados y Discusión

La concentración de fenoles totales en el extracto de orégano (0.2201) así como la de ácido rosmarínico (0.0419) fue superior a la del extracto de salvia (0.0763-fenoles, 0.0027-ácido rosmarínico), la de ácido carnósico fue igual (0.0003), los TBARS a las 72 h fueron 0.2193 y 0.2547 orégano y salvia, respectivamente (Figura 1). El extracto de romero presentó mayor cantidad de ácido carnósico (0.0883), menor concentración de fenoles totales (0.0832), de ácido rosmarínico (0.0272) y TBARS (0.1582) comparado con el orégano.

La eficiencia antioxidante de los extractos no depende de la concentración de fenoles totales sino de la concentración de ácido carnósico. Pudiera ser debido a que la efectividad de los antioxidantes en retardar la oxidación de lípidos en una emulsión aceite en agua, como es considerada la pasta, se incrementa conforme su polaridad disminuye a causa de que pueden localizarse en la interfase aceite-agua, que es donde se lleva a cabo la oxidación (4). El ácido carnósico es menos polar que el ácido rosmarínico (Hernández et al., 2007).

Orégano Mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer) Y Sal como antimicrobiano

Metodología

Se determinaron las concentraciones inhibitorias (CMI) y bactericidas (CMB) de cloruro de sodio y aceite esencial de orégano Mexicano sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* (2). Se

analizó el efecto antimicrobiano de tres fracciones de aceite esencial de orégano (una alta en carvacrol, una alta en timol y un aceite esencial completo) a 37°C. En base a los resultados se evaluó el efecto de la interacción del aceite esencial de orégano Mexicano (0, 125 y 250 ppm) en combinación con concentración de cloruro de sodio (0, 2.5 y 5%) sobre el crecimiento de *L. monocytogenes* en leche descremada (3).

Resultados y Discusión

De los microorganismos estudiados, el más afectado fue *L. monocytogenes*, mientras el menos afectado *E. coli*.

En relación a las fracciones, se observó un efecto diferencial, siendo las fracciones más altas en cualquiera de los compuestos, las más efectivos. Se evaluó también el efecto de la temperatura en la inhibición de *L. monocytogenes*, y se observó que a 5°C, el microorganismo requirió mayor concentración de aceite de orégano para causar el efecto inhibitorio (Fracción alta en timol, CM/CMB 37°C 125/125 ppm; 5°C 150/150). *L. monocytogenes* se ha relacionado con problemas de brotes alimenticios en queso (4).

En relación a la concentración de sal, *S. aureus* fue altamente resistente (CMI/CMB >5%), mientras que *L. monocytogenes* fue la más sensible (CMI/CMB 2%). Del crecimiento de *L. monocytogenes* en leche, en presencia de sal, de aceite esencial de orégano o de la interacción de ambos factores, se observó que cuando no se añadió sal, el efecto inhibitorio del aceite esencial de orégano Mexicano se incrementó con la concentración utilizada. (Figura 1). Sin embargo, cuando se añadió sal a una concentración de 2.5% o 5% de sal (datos no mostrados), el efecto de éste factor sobre el crecimiento del microorganismo, fue muy drástico, de manera que las concentraciones crecientes de aceite esencial de orégano Mexicano, no presentaron un efecto significativo (Sotelo et al., 2007).

Efecto antimicrobiano (*Lippia Berlandieri* Schauer)

Orégano en polvo tanto para inhibir como para causar la muerte de bacterias, en general los resultados indican que tiene efecto bacterisida especies

del genero *Vibrio*, ya que en cuatro de las cinco especies (*V. cholerae* no-01, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*), los valores de CMI y CMB fueron similares. Yano et al., 2006 obtuvieron una CMI de 0.5 % de oregano (*Origanum vulgare*) sobre *V. parahaemolyticus*, lo que demuestra que esta especie de oregano es más efectiva que el oregano mexicano en las cinco especies de *Vibrio* estudiadas en este trabajo (1.5-2.5%), pero a temperatura de 30 y 5°C que no son óptimas para el desarrollo de bacterias (**Paredes et al., 2007**).

12 Industria pesquera

"México es el séptimo productor de camarón en el mundo, así que muchas toneladas de cabezas del crustáceo regresan al mar cada año, y grandes cantidades de caparazones se tiran día a día en las marisquerías de todo el país. Aparte de que la industria de estos polisacáridos en nuestro país es prácticamente nula para fines alimenticios, así que se pueden aprovechar las propiedades antimicrobianas de los oligosacáridos de quitosán al usarlo como conservador (Miranda, 2007).

El exoesqueleto de crustáceos (carapachos del cangrejo y de langosta y el caparazón del camarón) es actualmente la fuente industrial principal de quitina. En el caso del camarón y el cangrejo, la quitina representa el 14-27% y 13-15%, respectivamente. En cutículas de crustáceos, la quitina está íntimamente asociada con las proteínas, sales inorgánicas - tales como el carbonato de calcio- y lípidos incluyendo los pigmentos, así el aislamiento abarca varias etapas de purificación.

Las cáscaras de almeja y ostra contienen cantidades significativas de quitina. Sin embargo, las producciones del polímero son bajas y el contenido mineral es muy alto en ambos. Contienen quitina al 6 y 4% y cenizas al 90 y 85%, respectivamente. Por el contrario con la cáscara de moluscos, que son la fuente menos pura de quitina, el esqueleto del calamar abarca el 40% de quitina que está casi libre de sales del calcio. La pluma del calamar es un hecho la única fuente importante de p-quitina polimorfa, puesto que los crustáceos contienen exclusivamente a-quitina (Hernández, 2007).

Por lo que es una buena opción de uso a todos los residuos de las industrias pesqueras (cabezas y caparazón de crustáceos), por un lado evitando la contaminación del medio ambiente, y por otro lado dándole valor agregado a estos residuos que tienen una importancia de conservación en el área de alimentos.

12.1 Quitina

Quitina: Son β -1,4 oligómeros de N-acetilglucosamina componente de las paredes fúngicas, es un polímero insoluble en solventes orgánicos y es el segundo polímero más abundante en la naturaleza (Zhao et al., 2005).

Este compuesto natural ha despertado un gran interés en los investigadores debido a que anualmente se obtienen en el mundo grandes volúmenes (120000 toneladas) de quitina de los residuos de mariscos (que tienen de un 14-35% de quitina asociado con proteínas) y además por el problema medioambiental dado por su lenta degradación. El resultado de estas investigaciones ha sido satisfactorio por el aprovechamiento de la quitina y la quitosana en la aplicación de las industrias farmacéutica, alimenticia, cosmética, entre otras.

12.1.1 Método de Extracción

Obtención del Quitosano por desacetilación química

La quitina obtenida se hidroliza con solución de NaOH 50% p/v y reflujo a 95°C, el tiempo es optimizado de acuerdo al mayor porcentaje de grupos amino obtenidos.

La desacetilación determina las propiedades físicas y químicas del polisacárido como: flexibilidad, propiedades mecánicas y tamaño de poro, capacidad para reaccionar y la biodegradación. El grado de desacetilación (DD) del quitosano es afectado por la concentración del ácido, la proporción de Hidroxido a quitosano, el tiempo de reacción y temperatura. Altas concentraciones de álcalis y tiempos prolongados facilitan la reacción de desacetilación pero desfavorecen el peso molecular debido a que la reacción

ocurre rápidamente durante la primera hora. Así como la quitina es desacetilada también puede ocurrir la degradación y sufrir un arreglo en las cadenas. La relación para Hidroxido:quitina fue de 20:1 para reducir el costo y garantizar el mayor DD en el polímero.

De 50 kilos de residuos de camarón, se obtuvieron 5 kilogramos, que es el 10% (De Cali et al., 2007).

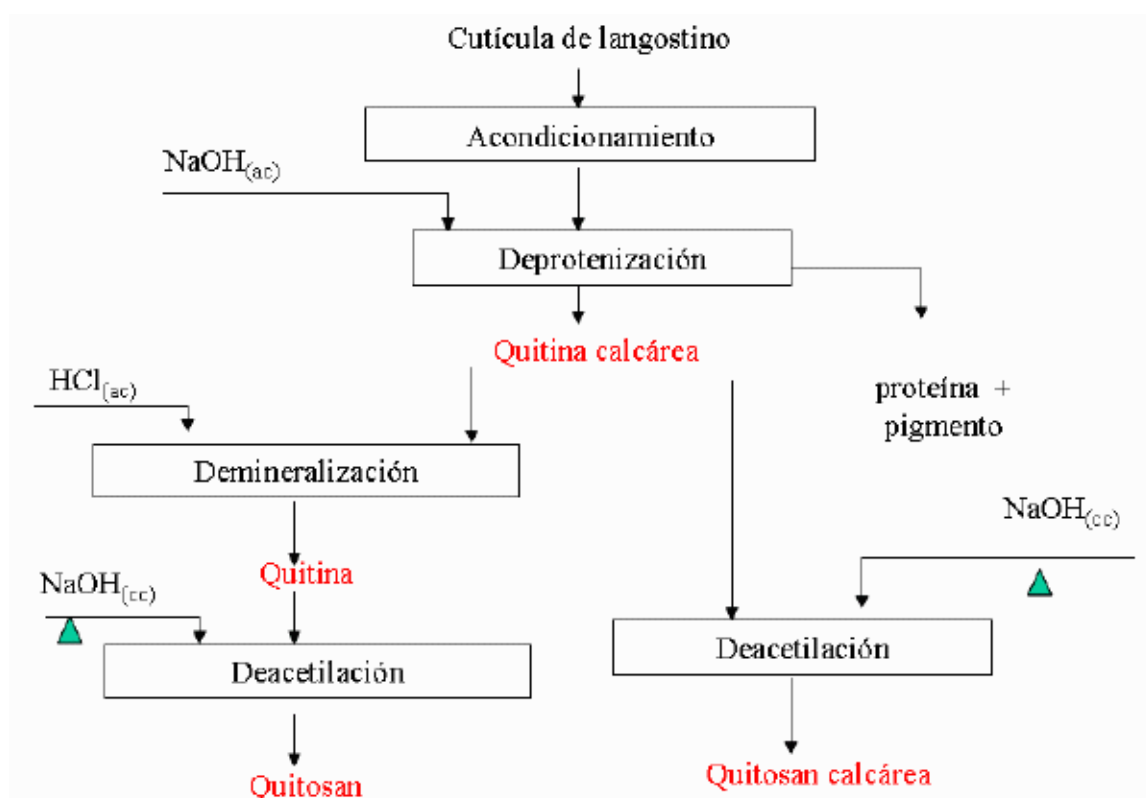


Figura 15 Obtención de quitina y derivados. Zapata, 2005.

Obtención del Quitosano por degradación enzimática

Los oligosacáridos de quitosán se pueden obtener por degradación química o enzimática, pero es preferible esta última vía debido a las ventajas que presenta sobre la primera, tales como el regular mejor las condiciones de reacción, y altera menos la estructura química del producto (Qin, 2002). Las enzimas que se usan para la degradación enzimática del quitosán son las

celulasas y quitosanasas, que se encuentran en hongos, bacterias y plantas, de forma inducible o constitutiva. Actúan de modo endo, mayormente, pero también existen las que actúan de forma exo. (Somashekar, 1996).

Métodos físicos: ultrafiltración (Somogyi, Nelson, 1956)

INNOVACION EN LA PREPARACIÓN DE QUITOSANO

En el libro “Handbook de quitina” editado por Ricardo A.A. Muzzarelli y Martín G. Peter, se ha recopilado la información científica relacionado a la preparación y caracterización de quitina y sus derivados.

Las propiedades y aplicación de la quitina y sus derivados se ha venido incrementando rápidamente, es así que ya dado lugar al desarrollo de las siguientes innovaciones en la preparación de quitosano:

Patente de Estados Unidos: 5,232,842: Park , et al.: 3 de Agosto, 1993

En este trabajo se prepara quitosano por inoculación a un hongo filamentoso el cual pertenece a la familia Mucoraceae. Para la pre-cultivación se emplea extracto de malta, peptona, glucosa y sulfato de magnesio.

Patente de Estados Unidos: 6,310,188: Mukherjee, et al. : 30 de Octubre, 2001

Este método es innovador para mejorar la eficiencia de obtención de quitina y quitosano. En este proceso los caparazones de crustáceos son mantenidos a altas temperaturas por tiempo establecido para su conversión a quitina.

Quitina y quitosano de alta pureza son producidos a bajo costo en comparación con los métodos convencionales. Es posible que luego del calentamiento, el material sea más sensible al ataque de álcalis o ácidos durante el proceso. Así mismo durante el proceso se usa menos cantidades de ácido clorhídrico e hidróxido de sodio, esto hace que el proceso entero sea más económico y menos contaminante.

Patente de Estados Unidos: 6,890,913: Chan , et al.: 14 de Octubre, 2003

En este trabajo se obtiene un quitosano de peso molecular promedio de 50,000-140,000 g/mol y grado de deacetilación de 85-95%. Así mismo también se

detalla el método para obtención de Quitosano a partir de hongos. Un ejemplo particular del hongo usado para este trabajo es *Actinomucor taiwanesis*. El crecimiento del cultivo de este hongo es a una temperatura de 15-24°C. El quitosano obtenido presenta actividades anti-cancerígenas.

Patente Europea: CN1515676: Chen Meihui, et al.: 28 de Julio, 2004

La presente invención relata un método para producir quitina y quitosano a partir del cultivo de los hongos taiwaneses de la especie *rhizopus azygosporus* o *actinumuco*.

Patente Europea: CN1534047: Chen Qingyuan, et al.: 06 de Octubre, 2004

En este trabajo se obtiene quitosano a partir de hongos con un peso molecular de 5000-140000 g/mol y grado de deacetilación de 85-95%.

Patente Europea: CN1563106: Jing Xiabin, et al.: 12 de Enero , 2005

Este trabajo corresponde a un método para la obtención de quitosano de bajo peso molecular o soluble en agua usando radiación gamma en el proceso. En este proceso un quitosano de refinado peso molecular en estado sólido o en solución puede ser irradiado usando una fuente de ⁶⁰Co de rayos gamma y degradado, el producto degradado es sometido al posteriormente tratamientos de disolución y decoloración, etc. Así es obtenido el quitosano de bajo peso molecular o soluble en agua.

Patente Europea: JP2005068282: Ishikawa Hiroshi : 17 de Marzo, 2005

Este trabajo desarrolla un método simple y no muy costoso para producir quitosano de fino tamaño de partícula el cual tiene propiedades de formar films, así como propiedades de cubrir la superficie de un sólido.

Par la obtención de quitosano de fino tamaño de partícula, se emplea una sal de ácido cítrico en solución acuosa la cual precipita al quitosano, por calentamiento se disuelve el quitosano precipitado por adición de la sal de ácido cítrico y finalmente se enfría la solución acuosa del quitosano precipitado.

Composición química representativa de diversos tipos de desechos quitinosos industriales.

Fuente	Proteína (%)	Ceniza (%)	Lípidos (%)	Quitina (%)	Astaxantina (mg/kg)
<i>Litopenaeus stylirostris</i> (cabeza de camarón)	42±1,8	20,5±0,5	2,4±0,02	35,5±2,1	88,2
<i>Litopenaeus spp.</i> (cáscara de camarón)	58±2,8	24,2±0,3	1,4±0,02	16,4±1,8	n.d
Desecho de langosta	23,1	33,7	2,2	20,2	983
Desecho de Krill (<i>Euphausia superba</i>)	41	23	11,6	24	n.d
Caparazón de <i>Callinectes spp.</i>	13,1±1,2	72,4±0,5	0,8±0,1	13,8±0,2	36
Pluma de calamar <i>Dosidicus Gigas</i>	55,3±3,1	0,9±0,04	0,6±0,03	43,2±2,4	-

CYTED IV.14, *Quitina y Quitosano, obtención caracterización y aplicación*, 1 ed., (2004) 113 Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú.

12.1.2 Quitosan

El quitosán, un polisacárido derivado de la quitina por una desacetilación, ha ganado importancia en los últimos años debido a su amplia disponibilidad y a sus múltiples usos, en áreas como Química analítica, biomedicina, ganadería y agricultura, entre otros ya que es soluble en soluciones acuosas y es un producto biológico con características catiónicas de carga eléctrica positiva (Lárez, 2003).

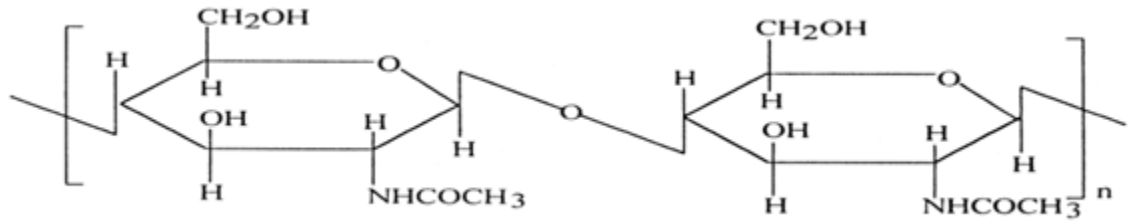


Figura 16 Estructura de quitina, Zapata, 2005

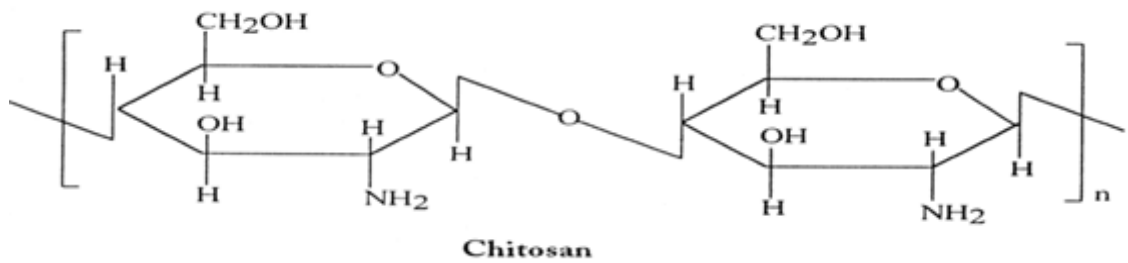


Figura 17 Estructura de Quitosan, Zapata, 2005

Propiedades del quitosan

Entre las propiedades del quitosán se encuentra la capacidad de inhibir el crecimiento de hongos y bacterias (Park, 2002), pero sus oligosacáridos tienen ventajas sobre él para su uso *in vivo*, como la solubilidad en agua, e inhiben mejor a los hongos debido a que las propiedades del quitosán dependen de su peso molecular (Tian, 2003).

El quitosán se puede clasificar principalmente en tres categorías, de acuerdo con su pureza:

- Grado técnico para agricultura y tratamiento de aguas.
- Grado puro para alimentos y cosméticos.
- Grado ultra-puro para uso biofarmacéutico.

En la industria de alimentos este derivado de la quitosina se utiliza para dar consistencia y viscosidad a los aderezos para ensaladas y mayonesas, mientras que en las frutas y verduras frescas sirve como un protector antimicrobiano. En el estómago humano, atrapa grasas como el colesterol y los triglicéridos, a los que conduce por el intestino capturados hasta evacuarlos. Así que una aplicación farmacéutica lo utiliza como regulador del peso corporal, mientras que también sirve como regulador de la presión arterial, consecuente a la disminución de grasas.

12.1.3 Oligosacàridos de quitosàn

Oligosacàridos de quitosano, productos de un elevado valor a~adido y con una amplia gama de potenciales aplicaciones en diversos campos, mediante tecnologías de biocatálisis (Villarán, 2007).

Las quitinasas de origen vegetal liberan fragmentos solubles de menor peso molecular con capacidad elicitora. Inducen lignificación y síntesis de fitoalexinas Mí~imo grado de polimerización con capacidad elicitora: 4 unidades monoméricas (Zhao et al., 2005).

El quitosano es hidrolizado principalmente por las quitinasas y las quitosanasas, aunque también puede ser hidrolizado por enzimas comerciales como glucanasas, pectinasas, lipasas y algunas proteasas.

Las quitinasas son endo- β -1,4-N-acetilglucosaminidasas que hidrolizan los enlaces β -1,4-glicosídicos de quitinas, quitodextrinas y quitosanos parcialmente acetilados de forma aleatoria (Ohtakara, 1988). Están presentes en hongos, insectos, algunas bacterias y en plantas superiores. Las bacterias producen quitinasas para digerir la quitina y utilizarla como fuente de carbono y energía mientras que en las plantas las quitinasas estàn involucradas en mecanismos de defensa frente a patógenos que contienen quitina.

Las quitosanasas catalizan la degradación del quitosano parcialmente acetilado de forma endo-hidrolítica. La capacidad para hidrolizar quitosanos con diferente grado de desacetilación depende del microorganismo que produce la quitosanasa. En funci3n de la especificidad del sustrato las quitosanasas

microbianas se pueden dividir en dos grupos I y II. Las que pertenecen al grupo I sólo pueden hidrolizar quitosano, mientras que las que pertenecen al grupo II pueden hidrolizar quitosano y carboximetilcelulosa (Chiang y col., 2003).

Las quitinasas y quitosanasas no están disponibles para aplicarlas a escala industrial, además su coste es muy elevado. La despolimerización del quitosano se puede realizar con enzimas inespecíficos (Terbojevich y col., 1996; Muzzarelli y col. 1994; Muzzarelli y col. 1997). Se han utilizado celulasas, pectinasas, lipasas y proteasas para despolimerizar el quitosano. Entre las proteasas podemos destacar a la papaína, una proteasa particularmente atractiva debido a su origen vegetal. Otra proteasa que despolimeriza de forma eficiente el quitosano es la pronasa, una serin proteasa obtenida a partir de *Streptomyces griseus*, obteniéndose quitosano de bajo peso molecular, oligómeros y monómeros. La máxima despolimerización con pronasa tiene lugar a pH 3,5 y 37°C (Kumar, 2004).

12.1.4 Efectos en los microorganismos y componentes alimenticios

El quitosano es usado en la industria alimentaria, particularmente en Japón, formulado en galletas, productos avinagrados y fideos debido a su acción hipocolesterolémica. También se emplea como conservante de los zumos de frutas, como película con propiedades antimicrobianas para cubrir frutas (El-Ghaouth y col., 1991; Jiang y Li, 2001), clarificación de zumos de frutas (Soto-Peralta y col., 1989).

Oligosacáridos de Quitosán como conservador

Se decidió adicionar los oligosacáridos de quitosán a tortillas de maíz como agente conservador, debido a que la tortilla es de gran importancia no sólo en nuestro país, sino en Latinoamérica, debido a que aporta hasta el 70% de calorías de la dieta de la población y la industria de la tortilla maneja el 5% del mercado global mexicano (Gaytán, 1995).

Según los reportes de *Capparelli* y *Mata* en 1975, los principales contaminantes de la tortilla de maíz son *Bacillus cereus*, dos especies de *Staphylococcus* y varias levaduras. De acuerdo con *Nelson* y *Tranmal*, en 1972, son *Bacillus sp.* *Penicillium sp.* *Rhizopus nigricus* y *Nigrospora sitophila*. (*Reyes*, 1998).

Resumen

El quitosán (5%, p/v) fue sometido a una depolimerización por una quitosanasa bacteriana comercial de tipo endo a diferentes tiempos de reacción (2, 4, 8, 14 y 24 h) en búffer de ácido acético-acetato de sodio (1M, pH 5). A las soluciones se les inactivó la enzima calentando para posteriormente filtrar y dializar en agua destilada para quitar el búffer. A estas soluciones se les determinó su solubilidad en agua, azúcares reductores y totales y fueron sometidos a la acción de una enzima exo para determinar el grado de polimerización. También se analizaron por cromatografía de permeación por gel. Estos oligosacáridos fueron probados para inhibir el crecimiento en placa de dos hongos filamentosos aislados de tortillas de maíz (*Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.*), midiendo el crecimiento radial después de inocular con esporas (1×10^6). Se obtuvo que los oligosacáridos que inhiben en mayor medida el crecimiento de los hongos, son los obtenidos a las 4 horas en la reacción con la endo enzima. Estos oligosacáridos fueron producidos en mayor cantidad para evaluarlos en tortillas de maíz y se liofilizaron. Este polvo se adicionó en una concentración de 1% a harina de maíz sin conservadores y se hicieron tortillas (según fabricante de la harina). Estas se empacaron en 7 grupos de 3 en bolsas plásticas estériles y se dejaron a temperatura ambiente por 30 días, realizando análisis cada 5 días para determinar la cantidad de hongos y levaduras (Norma Oficial Mexicana 111). También se hizo un blanco de prueba sin oligosacáridos. Las tortillas se sometieron a un análisis sensorial y no se notaron diferencias significativas entre las tortillas adicionadas con oligosacáridos y las tortillas sin ellos. Al final de estas pruebas se obtuvo que los oligosacáridos de quitosán evaluados inhiben el crecimiento de hongos en las tortillas de maíz de manera apreciable y podrían ser utilizados como un conservador de tipo natural (*Aguilar et al.*, 2004).

Oligosacaridos de quitosan como antimicrobiano

Resumen

Las bacterias contaminantes en la industria alimentaria como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, fueron aisladas a partir de ambientes extremos como Cuatrociénegas, Coahuila; ambas cepas se probaron y se caracterizó por la identificación bioquímica. Cinética de crecimiento se realizaron en cada microorganismo para determinar sus características de desarrollo en caldo nutritivo con la agitación de 150 rpm. La actividad antibacteriana de la COS se ensayaron contra *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* añadir las concentraciones de 0,5, 1,0 y 1,5%. Más del 90% de inhibición del crecimiento en *Escherichia coli* se logró utilizando el 0,5% de COS; para este *Pseudomonas aeruginosa* se observó en el 1,5% después de 96 h horas de incubación para cada cepa. Películas de COS puede ser aplicado en la carne, frutas, etc para protegerlos de los agentes patógenos comunes, como las probadas, lo que permite mayor vida útil a los productos naturales sin cambios en el sabor, apariencia, etc. (Del Ángel et al., 2008).

Quitosano como antifungico

El Moho gris causada por *Botrytis cinérea*, es una de las enfermedades de frutas y hortalizas en la cosecha y durante el almacenamiento.

Por lo tanto, el presente estudio se llevó a cabo para investigar la eficacia de quitosano con diferentes pesos moleculares en el moho gris in vitro e in vivo en el sector de las frutas de tomate (*Solanum lycopersicum* L. var. *Lycopersicum*) almacenados a diferentes temperaturas.

En el experimento in vitro, los resultados demostraron que la actividad antifúngica disminuyó con el aumento de peso molecular de oligosacidos de quitosan.

En un estudio in vivo, los tratamientos con oligosacidos de quitosan redujo significativamente la descomposición por el hongo y todos los compuestos con concentraciones de 2000 y 4000 mg / L mostró un control completo del hongo en la herida-inoculado en el fruto. oligosacidos de quitosan con un peso molecular

de $5,7 \times 10^4$ g / mol es el más eficaz entre los compuestos probados. Los resultados también revelaron que las altas concentraciones de oligosacidos de quitosan baja la incidencia de la enfermedad, independientemente de las condiciones de almacenamiento.

Estos hallazgos sugieren que los efectos de quitosano con diferentes pesos moleculares en el moho gris en el tomate pueden estar asociada con propiedades antifúngicas directa contra el agente patógeno, y la estimulación de las respuestas bioquímicas de defensa en el sector de las frutas (Mohamed, et al., 2009).

Combinación de quitosano y etanol como antifungico

Resumen

Moho gris, causado por *Botrytis cinerea*, es la más importante enfermedad de poscosecha de uva de mesa. Quitosan, un biopolímero natural con propiedades antifúngicas y el etanol, un aditivo alimentario con propiedades antimicóticos, son capaces de reducir el deterioro causado por el hongo después de la poscosecha de uva de mesa. Se evaluó la eficacia de la reducción de dosis de quitosano y etanol, aplicado solo o en combinación.

Se inocularon artificialmente las bayas de uva y se sumergieron en quitosano al (0,1 y 0,5%), etanol (10 y 20%), o su mezcla. La combinación de 0,5% quitosano con 10 o 20% de etanol mejora de la decadencia de control con respecto a su único tratamientos (reducciones de 94 y 97%, mientras que las combinaciones de 0,1% quitosano con 10 o 20% de etanol no mejoró el control de moho gris en comparación con los tratamientos aplicados por sí solo. Las bayas fueron almacenadas por 7 días a 15 ± 1 ° C.

Quitosano como antifungico

Resumen

las propiedades de quitosano fueron evaluadas in vitro para la protección de soja de un síndrome de muerte súbita (SDS).

Se sumergió en concentraciones de quitosan, lo cual según los resultados inhibido el crecimiento de *F. solani f. sp. Glycines*, tuvo un marcado efecto en concentraciones de hasta 1 mg / ml, y antifúngicos a 3 mg / ml fue capaz de retrasar los síntomas SDS, durante más de tres días después de la inoculación de hongos cuando se aplica preventivamente.

Sin embargo, a menor concentración de Quitosan se asocia que los síntomas de SDS van apareciendo poco a poco.

Estos resultados sugieren el papel de quitosan parcialmente en la protección contra *F. solani f. sp. Glycines*.

Quitosan como antioxidante

Resumen

Se evalúa la capacidad antioxidante de quitosan de diferentes pesos moleculares (30, 90 y 120 kDa quitosano) en el salmón (*Salmo salar*).

El progreso de la oxidación fue supervisado por ensayos donde se empleo de la 2-ácido tiobarbitúrico sustancias de reacción (TBARS) y 2, 2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH).

En general, los diferentes pesos moleculares de Quitosan tienen actividad antioxidante en el salmón, esto se realzo durante siete días de almacenamiento.

Los valores de TBARS en salmón que contienen quitosan fueron significativamente más bajos que los del control ($p < 0,01$). En 0,2% (w / v) y el 0,5% (w / v) las concentraciones, la TBARS con quitosano Además se redujo en un 75% y 45%, respectivamente, por más de 15 días. En el 1% de concentración, el valor de TBARS con quitosan se redujo en un 32% después de 15 días de almacenamiento. Quitosan con un peso Molecular de 90 kDa mostró un aumento de los radicales libres DPPH con aumento de la concentración en el rango de 0.2-1% (w / v).

La actividad de 0,2 mm DPPH solución saturada en un 30 kDa quitosán a una concentración de 0,7% (w / v), resultando en una fuerte actividad antioxidante de aproximadamente el 85.

Actividad antimicrobiana

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar in vitro la actividad antibacteriana con una mezcla de oligosacaridos de quitosán (2000-30 000 KDa) con un deacetylation grado de 91,5% en contra de dos agentes patógenos, *Actinobacillus actinomycescomitans* y *Streptococcus mutans*. Un 0,1% de concentración de los oligosacaridos de quitosán se utilizó para estimar la actividad antibacteriana. Se registro en unidades formadoras de colonias (UFC) / ml de *A. actinomycescomitans* se inactivo en un 0,1% después de poner quitosán por 30 min, 120 min. En contraste, el nivel de inactivación contra el *S. mutans* fue inferior al registro de 0,5 UFC / ml después de una exposición de hasta 120 min. Microscopía electrónica mostró que la exposición de oligosacaridos de Quitosán en *A. actinomycescomitans* provoca la desorganización de las membranas celulares y que podría ser considerado para el tratamiento de las enfermedades periodontales asociados con *A. actinomycescomitans*(Bong et al., 2001). Las películas también son preparadas desde el quitosán y sus derivados; las propiedades mecánicas, de barrera y su biodegradación son características estudiadas (Tangpasuthadol et al., 2003;). Es antifúngico y antimicrobiano, las películas a partir de quitosán prolongan la vida de los alimentos en las estanterías o en los anaqueles como en el caso del banano, el mango y la pera. Productos como Nutri- Suve®, basados en derivados del quitosán son trabajados extensamente para alargar la vida en anaquel de frutas como la manzana, las peras, granadillas, etc. Se han realizado estudios en películas de quitosán-almidón y quitosán-PLA las cuales han mostrado una alta permeabilidad a gases y un aumento en las propiedades mecánicas (Peesan et al., 2005;Xu et al., 2005).

Aplicaciones del quitosano como antimicrobiano en productos de origen animal

El quitosano como agente antimicrobiano presenta varias ventajas sobre otros tipos de envases activos, ya que posee una mayor actividad antibacteriana, un espectro de acción más amplio, una tasa de inhibición mayor, y menor toxicidad para las células de mamíferos (Franklin y Snow, 1981). En general se reconoce que levaduras y mohos son los microorganismos más sensible al quitosano, seguido por bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Aideret *al.*, 2010). Las propiedades antimicrobianas de soluciones y películas de quitosano han sido reportadas en varios estudios, en donde este biopolímero ha mostrado una gran capacidad de disminuir la multiplicación de una amplia variedad de bacterias principalmente, presentes en alimentos de origen animal.

Debido a su amplio espectro de acción, ya sea en forma de solución, película comestible, polvo agregado directamente en la preparación de alimentos procesados u otras formulaciones, se ha utilizado como preservante en la industria de alimentos de origen animal, en donde se aprecia que el quitosano es capaz de inhibir y/o disminuir el crecimiento de los principales microorganismos patógenos de alimentos de origen animal. Sin embargo, además de su acción antimicrobiana en alimentos, se ha descrito su acción *in vitro* sobre patógenos contaminantes de productos cárnicos y cecinas mencionando entre los principales: *Escherichiacoli* O157:H7 (Yang *et al.*, 2007), causante de graves complicaciones como la colitis hemorrágica y el síndrome urémico hemorrágico, y que su mayor fuente de infección son los alimentos de origen animal, principalmente carne de vacuno molida y leche cruda (Doyle, 1991; Smith, 1997); *Escherichiacoli* (Li *et al.*, 2006; Xinget *al.*, 2009); *Staphylococcus aureus* (Li *et al.*, 2006; Liuet *al.*, 2006; Xinget *al.*, 2009); *Listeria monocytogenes* (Zivanovicet *al.*, 2004; Li *et al.*, 2006); *Bacillus cereus* (Mellegårdet *al.*, 2011). Otro factor crucial a considerar en el efecto del quitosano para generar una inhibición o disminución de la carga microbiana es la concentración usada, esta depende de varios factores inherentes al quitosano y su preparación, y del microorganismo. Wang (1992) observó que una concentración alta de quitosano (1-1.5% p/v) se requiere para la inactivación completa de *Staphylococcus aureus* después de dos días de incubación a pH 5,5. *Bacillus cereus* requiere una concentración de quitosano del orden de 0,02% p/v para un efecto bactericida. *Escherichiacoli* y *Proteus vulgaris* mostraron crecimiento mínimo en

soluciones de quitosano al 0,005%, y una inhibición completa a > 0,0075% de quitosano (Simpson *et al.*, 1997).

Sin embargo, hay otros autores que describen resultados diferentes, debido a que la actividad antimicrobiana del quitosano y su concentración mínima inhibitoria varía considerablemente con el tipo de quitosano (α,β -quitosano), grado de desacetilación (Tsai *et al.*, 2002), peso molecular (Jeon *et al.*, 2001; No *et al.*, 2002), organismo blanco y las condiciones del medio en el que se aplica, particularmente pH, fuerza iónica y presencia de solutos susceptibles de reaccionar intermoleculares, que puedan bloquear parcial o completamente la reactividad del grupo amino activo (No *et al.*, 2002).

Por otra parte, soluciones de quitosano con diferentes pesos moleculares, y oligosacáridos obtenidos a partir de la hidrólisis enzimática han demostrado tener un efecto inhibitorio contra *Campylobacter* (Ganan *et al.*, 2009; Mengíbar *et al.*, 2011), agente que se considera como el más importante patógeno en alimentos de origen animal e involucrado en la transmisión de enfermedades gastrointestinales en todo el mundo, transmitido principalmente por las aves de corral, y en especial el pollo, siendo ésta la principal fuente de infección en los seres humanos (Lee y Newell, 2006).

Dado que una gran proporción de la producción de pollo de la Unión Europea está contaminado con *Campylobacter* (EFSA, 2010), y también de acuerdo a la reciente prohibición por la Unión Europea del uso de antibióticos en la alimentación animal para promover el crecimiento (European Commission, 2003), es esencial la búsqueda de nuevos productos y estrategias naturales sostenibles para reducir la incidencia de contaminación microbiana en la cadena alimentaria. Por tanto, debido a la abundancia, versatilidad y facilidad de aplicación del quitosano, este biopolímero se convierte en un compuesto prometedor para su aplicación como agente antimicrobiano en alimentos de origen animal.

En relación a estudios realizados en leche y productos lácteos existen pocos reportes en la literatura, posiblemente por el hecho que el quitosano podría inhibir microorganismos necesarios para la elaboración de productos lácteos fermentados como *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* sp. *Bulgaricus*, otras bacterias ácido lácticas, propionibacterias etc. Sin embargo, hay literatura del efecto del quitosano sobre la

contaminación con microorganismos en el proceso de post-producción de la leche. Ha y Lee (2001) investigaron la efectividad de soluciones de quitosano (0,03% p/v) para minimizar la contaminación microbiana (bacterias y levaduras) en leche procesada.

Observando una completa inhibición del crecimiento microbiano en leche con sabor a plátano durante 15 días de almacenamiento a 4 y 10°C.

Mecanismos de acción antimicrobiana del quitosano

La actividad antimicrobiana del quitosano difiere del microorganismo, en el caso de los hongos, este polímero ejerce un efecto antifúngico inhibiendo la formación de esporas e hifas (Hernández-Lauzardo *et al.*, 2008). En contraste, la actividad antibacteriana del quitosano es más compleja y difiere entre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas debido a la diferente composición de la superficie celular entre ambos tipos de bacterias. Respecto al mecanismo de acción antimicrobiana del quitosano no está totalmente dilucidado, y dentro de los mecanismos propuestos, los investigadores coinciden que posee tres posibles acciones.

a) Carácter catiónico

El primer mecanismo se basa en las cargas positivas que posee el quitosano (NH_3^+), debido a la presencia de un cambio sobre el C-2 del monómero de la glucosamina, cuando este polímero se solubiliza en soluciones ácidas con pH menor a su pKa (pH \approx 6-7)

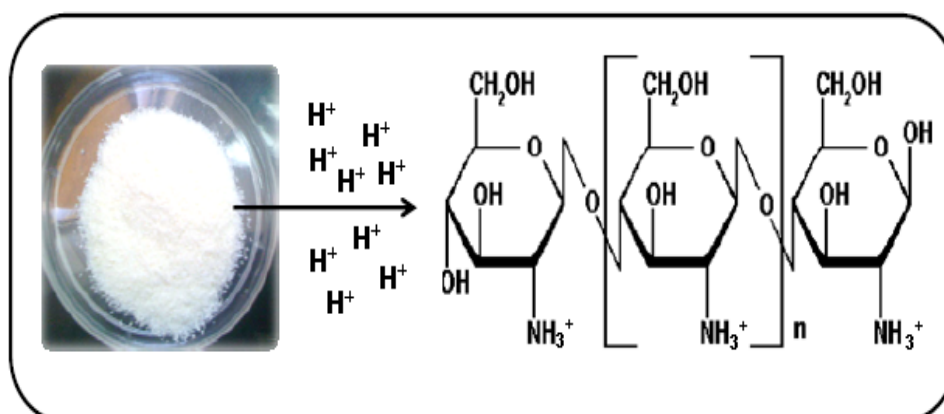


Figura 18 Estructura y carácter catiónico del quitosano en disolución ácida.

Para el caso de soluciones de quitosano llevadas a pH 5,5 se ha estimado que los grupos aminos se encuentran parcialmente protonados. En cambio a pHs menores éstos grupos se encuentran protonados (Helander *et al.*, 2001; No *et al.*, 2007), reaccionando potentemente con los grupos hidrofílicos aniónicos (tales como lipopolisacárido, ácido teicoico de las bacterias Gram-negativas y proteínas celulares específicas), que juegan un papel primordial en la actividad antibacteriana de las membranas celulares de los microorganismos (Rabea *et al.*, 2003). Por ejemplo, en estudios realizados en algunas levaduras se reportó que la parte externa de la membrana plasmática está enriquecida por esfingolípidos, que están cargados negativamente, los cuales interactuaban con los grupos amino del quitosano, generando una desestabilización de la membrana y lisis celular (Zakrzewska *et al.*, 2005). El quitosano forma canales de transporte de moléculas en bicapas lipídicas artificiales, lo que provee evidencia que el quitosano puede desorganizar la membrana celular (Zakrzewska *et al.*, 2007). Liu *et al.* (2004) determinaron que la acción antimicrobiana del quitosano consistía en la destrucción de las membranas internas y externas de las bacterias, liberando los componentes intracelulares. Helander *et al.* (2001) reportaron que el quitosano cambia el estado de la membrana externa y modifica la superficie celular, generando el debilitamiento de la función celular de bacterias Gram-negativas. Otro factor que incide en la actividad microbiana del quitosano es la fase de crecimiento en la que se encuentra el microorganismo, ya que la electronegatividad de la membrana cambia en las diferentes etapas del crecimiento bacteriano, lo que puede generar menor o mayor susceptibilidad (Tsai y Su, 1999; Yang *et al.*, 2007).

b) Agente quelante

Un segundo mecanismo propuesto para el quitosano, es que puede actuar como agente quelante, formando complejos con metales trazas (incluyendo Ni²⁺, Zn²⁺, Co²⁺, Fe²⁺, Mg²⁺ y Cu²⁺) en condiciones ácidas, inhibiendo el desarrollo microbiano y producción de toxinas, y la disponibilidad de micronutrientes esenciales para las actividades celulares vitales de los microorganismos (Rabea *et al.*, 2003). También se ha observado que el quitosano es capaz de quelar cationes divalentes estableciendo interacciones electroestáticas con moléculas aniónicas (fosfato, carboxilato), que componen

los lipopolisacáridos, desestabilizando la membrana celular de las bacterias (Helander *et al.*, 1997).

c) Penetración al interior de la célula

Como tercer mecanismo se ha postulado que oligómeros de quitosano de bajo peso molecular penetran en las células de los microorganismos e impiden el crecimiento de éstas, ya que inhibe la acción de varias enzimas e interfiere en la síntesis de proteínas por inhibición de la transformación de ADN en ARNm (Tharanathan y Kittur, 2003).

En resumen la actividad antimicrobiana de quitosano y sus derivados se resume por la siguiente secuencia de sucesos (1) adsorción del quitosano y/o oligómeros de éste sobre la superficie de la célula bacteriana, (2) difusión a través de la pared celular e interrupción de la función adecuada de ésta, (3) provocando la interrupción de la membrana citoplasmática, (5) y generando finalmente fugas de los constituyentes citoplásmicos, y (6) la muerte de la célula (Ikeda y Tazuke, 1984; Papineau *et al.*, 1991).

Otras aplicaciones del quitosano en alimentos de origen animal

Carnes:

En productos cárnicos se ha utilizado el quitosano, por su alta actividad antimicrobiana, para controlar los principales patógenos involucrados en la transmisión de enfermedades a los seres humanos como se revisó anteriormente, sin embargo, las películas y soluciones de quitosano también se han utilizado debido a su eficacia sobre la estabilidad de almacenamiento de la carne y mejoramiento de sus propiedades organolépticas. Por ejemplo, Darmadji y Izumimoto (1994) observaron que la adición de 1% p/v de quitosano en carne de vacuno picada disminuyó significativamente el valor del indicador de ácido tiobarbitúrico (TBA) en comparación con la muestra control, demostrando que la adición de quitosano disminuye la oxidación de lípidos en la carne, resultando en un efecto deseable sobre la mantención del color rojo del producto durante el almacenamiento. Lee *et al.* (2003) observaron que trozos de carne de cerdo sumergida en soluciones de quitosano de peso molecular de 30 y 120 kDa al 1% p/v, presentaron una mayor vida útil y menor oxidación lipídica. Park *et al.* (2010) también reportaron una mayor duración del color rojo característico de la carne vacuna al recubrirla con películas de polietileno de baja densidad y quitosano al

2% p/v en ácido láctico. Vargas *et al.*(2011) aplicaron películas comestibles basadas en quitosano en la superficie de hamburguesas de cerdo, logrando incrementar el contenido de metamioglobina, lo que se tradujo en un mejor aspecto de las hamburguesas. Otros autores también han reportado el uso del quitosano como antioxidante y han concluido que este efecto mejora la apariencia de la carne, relacionada con el color, y disminuye el olor desagradable generado por la rancidez de los lípidos propios de la carne (Kanatt *et al.*, 2004; Rao *et al.*,2005). Esto también ha sido descrito cuando películas de quitosano se han usado como recubrimiento comestible de filetes frescos de pescado (Jeon *et al.*,2002) y en camarones refrigerados (Huang *et al.*,2012).

Algunos investigadores reportaron en otros alimentos que el quitosano es capaz de establecer reacciones con la vitamina E mediante interacciones iónicas que la hacen más estable (Koide, 1998). Incluso según Pasanphan *et al.* (2010) recientemente el quitosano se ha comenzado a utilizar como una alternativa de antioxidante natural, debido a la capacidad de los oligómeros de soluciones de quitosano de atrapar radicales hidroxilos mediante reacciones iónicas con los grupos amino de su estructura química (Xie *et al.*,2001; Sun *et al.*, 2007).

Leche y productos lácteos

En la literatura hay pocos estudios acerca de la utilización de quitosano para evaluar la posibilidad del uso de quitosano para mejorar la calidad y vida útil de la leche. Leey Lee (2000) demostraron que la incorporación de soluciones de quitosano al 0,5% y 1,0% p/v en leche líquida, podría mejorar el proceso de esterilización logrando hacerlo a 73°C durante 15s, evitando la coagulación de la proteína láctea. Sin embargo, la adición de quitosano afectó negativamente la calidad sensorial de la leche modificando el color, sabor y el aroma. Gammariello *et al.* (2008) estudiaron el efecto del quitosano sobre las propiedades sensoriales y reológicas de un queso untable durante su almacenamiento. En particular, el quitosano mejoró las propiedades antes mencionadas del queso para untar, siendo más suave que las muestras control y no afectó la microflora de éste. Fajardo *et al.* (2010) utilizaron películas de quitosano como base para impregnar natamicina, y recubrieron con estas películas quesos semi-duros, los cuales presentaron un menor crecimiento fúngico (*Aspergillus niger*, *Penicillium crustosum* *P. commune* y *P. roqueforti*) en su superficie durante el

almacenamiento. Di Pierro *et al.* (2011) aplicaron películas de mezcla entre quitosano/proteínas de suero de leche como envase activo a queso tipo ricota, y observaron una mayor vida útil de este producto y una disminución de los organismos mesófilos y psicotróficos. Del Nobile *et al.* (2009) utilizaron películas de quitosano solas y activas (impregnadas con lisozima, ácido etilendiaminatetraacético, sal disódica), combinadas con envasado en atmósferas modificadas, para prolongar la vida útil de quesos "Fior di Latte". Los autores encontraron que los quesos recubiertos almacenados obtuvieron una mayor vida considerable de aquel que los quesos almacenados con envases tradicionales.

Por otra parte, existe un interés creciente en el desarrollo de nuevos productos con proteínas obtenidas desde los productos lácteos. Para este propósito, diferentes propiedades físicas y químicas de variados polímeros han sido utilizadas para aislar y recuperar proteínas de la leche (Huffman y Harper, 1999). Al respecto, el quitosano ha sido utilizado por la industria láctea, como agente coagulante de la caseína a través de interacciones electroestáticas e hidrofóbicas (Ausar *et al.*, 2001). Como también debido a las propiedades mucoadhesivas del quitosano, que mejoran la adsorción de péptidos y estimulan la actividad de macrófagos y funciones inmunológicas (Nishimura *et al.*, 1984; Rossi *et al.*, 2000; Bianco *et al.*, 2000).

Otro uso potencial del quitosano es el desarrollo de nuevos productos lácteos fermentados, en los cuales se agrega este biopolímero como fibra natural, no obstante, se requiere que las bacterias representantes de la fermentación de la leche: *L. delbrueckii* sp. *Bulgaricus*, *S. thermophilus* y *Propionibacterium freudenreichii* puedan crecer en su presencia. En un estudio realizado por Ausar *et al.* (2002) lograron disminuir la actividad antimicrobiana del quitosano sobre éstas bacterias, debido a la fuerte interacción de los grupos catiónicos del quitosano con residuos de la caseína y/o grasa láctea, disminuyendo su acción antimicrobiana, y potenciando su efecto coagulante, logrando obtener un queso enriquecido con fibra.

Se ha reportado que el quitosano también disminuye las reacciones de deterioro de los alimentos cárnicos y lácteos, evitando el pardeamiento no enzimático (PNE) o reacción de Maillard, siendo este fenómeno nefasto para la calidad alimentaria, puesto que provoca la disminución del valor nutritivo y

aparición de color y sabores desfavorables, y origina productos potencialmente tóxicos. El PNE se produce durante la preparación de alimentos líquidos concentrados como leche, la cocción de algunos alimentos marinos y la deshidratación de leche, huevos, carnes, harina de pescado, etc. La reducción del PNE de los alimentos antes mencionados se produciría por la reacción de los grupos amino del quitosano con los grupos carbonilo, de los azúcares reductores, algunas vitaminas, productos de la oxidación de lípidos y compuestos con grupos amino como los aminoácidos (Rodríguez *et al.*,2001; Rodríguez *et al.*, 2002).

Cecinas

Los resultados indican que la aplicación de un recubrimiento con quitosano por inmersión de cecinas, mejora la calidad microbiológica y extiende la vida útil, lo que podría ser una alternativa a la protección química mediante aditivos (Bostan y Isin Mahan,2011).

Huevos

Diversos problemas se han encontrado durante elalmacenamiento de los huevos, tales como la pérdida de peso, deterioro de la calidad interior, y la contaminación microbiana (Bhale *et al.*, 2003; De Reu.*et al.*, 2006). Algunos investigadores han reportado que el recubrir huevos con quitosano es eficaz en la preservación de la calidad interna de los huevos sin afectar a la aprobación del consumidor. Así por ejemplo, se ha probado la mejoría en la vida útil en estantería de huevos recubierto con quitosano (Caner,2005). Por otra parte, las unidades Haugh y los valores de índice de yema muestran que la calidad de la albúmina y la yema de huevos revestidos con quitosano son preservadas hasta por 5 semanas a 25°C, que es por lo menos 3 semanas más que el observado para huevos control (Bhale *et al.*, 2003) además demostrar una significativa reducción de las pérdidas de peso de huevos tratados (Kim *et al.*, 2006).

13. RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados por (Bosquez *et al.*, 2003) indican que las películas de cera de candelilla sola o combinada con cera de abeja, aceite mineral o ácido oleico en una relación 2:1, es un buen método de conservación de frutas y hortalizas, para diferentes microorganismos, dependiendo del tipo de fruto del cual se trate.

Los resultados reportada por (Chaquilla, 2000) dice que la actividad antioxidante del Orégano se debe a la fracción de 1 al 0.3%, que está constituida por carvacrol de la variedad (*Lippia berlandieri Schauer*).

Los resultados por (Rangel, 2007) fundamentan la presencia de propiedades antimicrobianas en el aceite esencial de orégano ya que demostró inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos anaerobios alimentarios *C. perfringes* y *B. cereus*, siendo la mejor fracción inhibitoria la 2 (Alta Timol 77.4%) en concentraciones de 0.5, 0.20, 0.15 y 0.10%; de la variedad (*Lippia berlandieri Schauer*).

Los resultados por (Hernández *et al.*, 2007) indican que la eficiencia como antioxidante de los extractos en la carne no depende de la concentración de fenoles totales sino de la concentración de ácido carnósico.

Los resultados por (Sotelo *et al.*, 2007).El aceite esencial de orégano Mexicano tiene efecto inhibitorio contra *L. monocytogenes* tanto en caldo de cultivo, como en leche descremada. El efecto del cloruro de sodio, sobre *L. monocytogenes* es mayor que el del orégano.

Los resultados por (Paredes *et al.*, 2007) Podrían utilizarse como aditivo o conservadores, principalmente en productos donde el olor y el sabor del orégano no influya negativamente en sus propiedades sensoriales. Los aceites también pueden utilizarse como desinfectantes industriales, quizás seguido de un enjuague para eliminar los residuos del compuesto, los cuales podrían proporcionar alguna característica sensorial a los productos que entren en contacto con las superficies desinfectadas.

Los resultados por (Reyes, 1998) indican que la obtención de quitosan obtenida por método enzimático tubo, posteriormente se liofilizaron, adicionándose a una concentración de 1% a la harina de maíz sin conservadores y se hicieron tortillas, por lo que se obtuvo un efecto antifúngico en contra de “*Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.*”

Los resultados por (Del Ángel *et al.*, 2008) reporta que utilizado Oligosacaridos de Quitosan, más del 90% de inhibición del crecimiento en *Escherichia coli* se logró utilizando el 0,5% de COS; para este *Pseudomonas aeruginosa* se observó en el 1,5% después de 96 h horas de incubación para cada cepa.

Los resultados por (Mohamed *et al.*, 2009) demuestran que en el experimento in vitro, los resultados demostraron que la actividad antifúngica de los oligosacaridos disminuyo con el aumento de peso molecular de oligosacidos de quitosan contra el Moho gris causada por *Botrytis cinérea* del de tomate (*Solanum lycopersicum L. var. Lycopersicum*).

Los resultados por (Gianfranco *et al.*, 2007) En la combinación de etanol y oligosacaridos de Quitosan, cuando hay mayor aumento de concentración de Oligosacaridos de Quitosan hay mejor resultado contra Moho gris, causado por *Botrytis cinérea*, en la uva de mesa.

Los resultados por (Benjaphorn *et al.*, 2007) indican que el papel de quitosan a concentraciones de hasta 1 mg / ml, y antifúngicos a 3 mg / ml fue capaz de retrasar los síntomas SDS, durante más de tres días después de la inoculación del hongo *F. solani f. sp. Glycines*.

Los resultados por (Kyung *et al.*, 2007) Indican que en general, los diferentes pesos moleculares probados de Quitosan tienen actividad antioxidante en el salmón,

Los resultados por (Peesan *et al.*, 2005) En concentraciones de 0,1% de concentración de los oligosacaridos de quitosan tiene efecto inhibitorio contra *A. actinomycetemcomitans*, por lo que indica que las películas a partir de quitosan

prolongan la vida de los alimentos en las estanterías o en los anaqueles como en el caso del banano, el mango y la pera.

14. CONCLUSIONES

En la actualidad existen diversos métodos de conservación para los alimentos, en los cuales se incluyen a los métodos por tratamiento térmico que generalmente dan origen a fenómenos de evaporación y desecación, oscurecimiento, pérdida de aroma, sabor y palatabilidad. Por encima de 50°C se produce el cambio de estado de algunas proteínas y a temperaturas superiores a los 100°C se produce desnaturalización de proteínas, quemaduras y cambios de coloraciones.

Los métodos de conservación no térmico en condiciones no aptas para el producto producen congelación (cristalización y quemaduras por congelación), oxidación y enranciamiento, decoloraciones o aparición de coloraciones anormales.

La acción de la humedad: la evaporación y desecación produce pérdida de peso, desecación superficial, contracción de volumen, coloraciones anormales, pérdida del aroma, etc.

Los métodos de conservación mediante químico causantes de alteraciones destacan: las reacciones de pardeamiento enzimático y no enzimático, debida a la acción de la enzima polifenoloxidasa. Plantea importantes problemas de coloraciones con algunas frutas y legumbres (manzanas, plátanos, peras y otras frutas cortadas) en especial, cuando se alteran los tejidos de éstos vegetales o se dañan por golpes durante los procesos de pelado, corte, triturado, etc.

Estas reacciones conducen a la formación de polímeros oscuros que en algunos casos pueden ser deseables, pero que en la mayoría de casos conllevan alteraciones organolépticas y pérdidas del valor nutritivo de los alimentos afectados. Se presenta durante los procesos tecnológicos o el almacenamiento de diversos alimentos. Se acelera por el calor y por tanto se acusa especialmente durante las operaciones de cocción, pasteurización y deshidratación.

La alteración de las grasas por hidrólisis lipolítica (lipólisis por acción enzimática de lipasas, liberación de ácidos grasos produciendo enranciamiento) y oxidación lipídica (por acción de la luz o metales las grasas insaturadas se oxidan y dan lugar a radicales peróxidos e hidroperóxidos con formación de aldehídos y cetonas). Las decoloraciones debidas a degradación de la clorofila, oxidación de carotenoides, etc.

Otros métodos de conservación como son: Altas presiones, Pulsos Eléctricos, Irradiaciones, etc. Su principal objetivo es inactivar a los diferentes microorganismos causantes de enfermedades en los cuales se ha demostrado por diferentes estudios que no causa ninguna alteración físico-química en los alimentos, estos resultan más efectivos en la combinación de métodos.

Sin duda estos métodos son muy buenos, pero en la actualidad Cabe señalar que en México se dispone de diferentes materiales naturales que ofrecen nuevas oportunidades para el desarrollo como lo son los métodos amigables con la naturaleza (fáciles de almacenar con vida útil satisfactoria, de alta calidad, de procesos menos severos, con menos aditivos artificiales, saludables, y libres de contaminantes), y sin causar ningún daño al medio ambiente.

Dentro de estos métodos se encuentran algunos estudios de la cera de candelilla, Orégano y Oligosacaridos de Quitosan como conservadores en alimentos.

El encerado permite la formación de una barrera física que restringe la pérdida de agua de los frutos y por lo tanto reduce su marchitamiento. Sin embargo, esta protección contra la deshidratación de los frutos no es completa, pues las ceras solo reducen está pérdida de un 30 a un 40%. En diversas hortalizas, el encerado se utiliza principalmente para dar brillo al fruto y no con el fin de disminuir su deshidratación y evitar la invasión de diferentes microorganismos; además de ser un método que no se puede llevar a cabo en productos de origen animal; otro de los inconvenientes es que eexisten varios factores que afectan a los volúmenes de producción de la cera de Candelilla, así como a los indicadores de rendimiento en la extracción y calidad final de la cera,

y estos son difíciles de controlarlos en las regiones donde se producen por lo que tiene un bajo rendimiento.

En el orégano existen múltiples estudios sobre la actividad antimicrobiana de los extractos de los diferentes tipos de orégano, destacándose principalmente por presentar actividad antimicrobiana, antifúngica y como antioxidante, y a pesar de ser un método de conservación de una planta natural se necesitan emplear químicos para la extracción del aceite, como es el de la desodorización para eliminar el olor al momento de aplicarlo en el producto y que no tenga algún rechazo por este, afectando sus propiedades sensoriales.

Los oligosacáridos de quitosán generalmente se obtienen por método enzimático de la quitina, que inhiben el crecimiento de bacterias y hongos, aplicados en alimentos de origen animal y vegetal (Releut et al, 2011).

Este método de conservación en comparación con el aceite de orégano y la cera de candelilla es que no se necesita invertir en la materia prima “quitina” ya que esta se puede obtener de residuos de la industria pesquera, generalmente los COS se obtienen por métodos enzimáticos y no químicos a diferencia de la obtención de aceite de orégano y cera de candelilla; se puede aplicar en productos vegetales y animales, sin dejar ningún olor.

Además de tener una gran ventaja comparada con el aceite esencial de Orégano ya que esta se oxida “enranciamiento” a diferencia de los oligosacáridos de quitosán que se pueden conservar por periodos largos, hasta la fecha hay más estudios en productos de origen animal, es más caro el proceso de extracción de aceite esencial de orégano ya que hay poco rendimiento (200 kilos de hoja seca de orégano produce 5 litros de aceite esencial; el tiempo empleado en este proceso es de aproximadamente 3 horas, con una mano de obra de 3 personas (CONAFOR, 2007).) y no siempre se obtiene las mismas cantidades de los componentes “timol y carvacrol” ya que según estudios por diferentes instituciones estos se ven afectados por diferentes factores como: estaciones del año, agua, época de cosecha y si están trabajando con la misma especie.

Comparado con la cera de candelilla puede ser aplicado como una película y/o recubrimientos comestibles “empaque biodegradable” para una gran variedad de aplicaciones que ofrecen en general a la industria alimentaria.

Se tiene ventaja con la cera de candelilla ya que diversos estudios reportan que solo se han realizado trabajos en productos de origen vegetal y la producción de esta planta *Euphorbia antisyphilitica* se desarrolla casi exclusivamente en una región semi-desértica de Norteamérica, conocida como “El desierto de Chihuahua”(Guerrero et al., 2003).

En general la amplia actividad antimicrobiana del quitosano junto con sus otras bondades (antifúngicas, como conservador, agente floculante, coagulante, antioxidante, bioembalajes con polímeros y así disminuir ciertas reacciones que reducen la calidad de los alimentos), que afectan las características organolépticas de los alimentos, ha hecho que sea considerado como un buen conservante natural de productos alimenticios. El quitosano ha sido aprobado como un aditivo alimentario en Corea y Japón desde 1995 y 1983, respectivamente. En los Estados Unidos, ha recibido la aprobación de la FDA como aditivo alimentario y su aplicación en sistemas de alimentación será ciertamente un producto de demanda creciente en un futuro próximo en los productos de origen animal. Las necesidades y desafíos que se vislumbran para el futuro de la producción, procesamiento y exportación de productos de origen animal en México, junto con, la posibilidad de aprovechar de mejor manera las fuentes naturales de quitosano desde los desechos de la industria pesquera, podrían entregar a México una ventaja comparativa en la comercialización y penetración comercial de estos productos. Por otra parte, la investigación en aplicaciones innovadoras y más eficientes de usos del quitosano en la industria de los alimentos, generaría en México una nueva fuente de negocio de productos para la conservación de alimentos para la exportación.

15. REFERENCIAS

- Agencia internacional de energía atómica, Código Alimentario Argentino-Codex Alimentarius- Centro Atómico Ezeiza- IONICS S.A.-Revistas La Alimentación Latinoamericana, y Techno Food.
- Aguilar González Cristóbal Noé, Dr. Juan Carlos Contreras Esquivel, Q.F.B. Araceli Loredó Treviño, Dra. María de la Luz Reyes Vega, Dr. Raúl Rodríguez Herrera. 2004. Universidad Autónoma de Coahuila. "Producción de oligosacáridos de quitosán por vía enzimática y su capacidad fungistática en tortillas de maíz" XXXII Premio Nacional en Ciencia y Tecnología de Alimentos.
- Alonzo A. Gabriel, Hiroyuki Nakano. *Issue 4, April 2009. Food Control, Volume 20, Pages 443-446.*
- Aluffi Oates Lorna, Mabel Rembado. 2005. Calidad alimentaria. Pág. 14.
- Anderson Pascual María del Rosario.1999 Vicente Calderón y Pascual. Microbiología Alimentaria.2da edición. Editorial Díaz de Santos. Pág. 142-143.
- Apostolidis E., Y.-I. Kwon, K. Shetty .10 December 2008. International Journal of Food Microbiology, Volume 128, Issue 2. Pages 317-324
- Avila Sosa R, Avila-Camacho A, Torres-Muñoz JV. Gastélum-Franco MG, Nevárez-Moorillón GV. 2002. Antioxidant and antimicrobial capacity of Mexican Orégano. IFT Annual Meeting; 46C-32.
- BARBOSA-CÁNOVAS, G.Y., POTHAKAMURY, U.R, PALOU, E., SWANSON, B.G. Non-thermal Preservation of Foods, Marcel Dekker, Nueva York, EUA., 1997.
- Barreiro José A y Aleida J. Sandoval B. 2002. Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Editorial Equinoccio. pág. 1,2.

- Bello Gutiérrez José. 2000. Ciencia bromatológica, Principios Generales de los Alimentos. Editorial Día de Santos. Pág. 21,24, 176.
- Beverly, R.; Janes M.; Prinyawiwatkula, W.; No, H. 2008. Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*. Food Microbiol.25, 534-537.
- Bong-Kyu Choi a, b Kwang-Yoon Kim c, Yun-Jung Yoo a, Suk-Jung Ohc, Jong-Hoon Choid, Chong-Youl Kimd. 2001. In vitro antimicrobial activity of a chitooligosaccharide mixture against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Streptococcus mutans*. International Journal of Antimicrobial Agents 18. Pág. 553–557.
- Bosques-Molina, E., Badillo-Casasola, A., Guerrero-Legarreta, I., y Vernon-Carter, E.J. (2002). Water Vapor Permeability of Mesquite Gum-Candelilla Wax Emulsion Coatings Incorporating Plasticizers. Paper 100B-34. June 15-19. Anaheim, CA: *Institute of Food Technologists Annual Meeting*.
- Bosquez, M.E. y Saucedo, V.C. 1992. Primera reunión Latinoamericana de Tecnología Postcosecha. UAM-I, CP; ENCBINP, UACH.MEX.
- Bosquez, M.E., Vernon, E.J., Pérez, L. y Guerrero, L.I. 2000. Películas y Cubiertas Comestibles para la Conservación en Fresco de Frutas y Hortalizas. *Industria Alimentaria*. 22(1):14-29, 32-36.
- Brock, TH. D: 1998. *Biología de los Microorganismos*. Editorial Prentice Hall. USA.
- Caner, C. 2005. The effect of edible eggshell coatings on egg quality and consumer perception. *J. Sci. Food Agr.* 85(11), 1897-1902.
- Carrillo Leonor. 2003. *Microbiología Agrícola*. Capítulo 4 pag.3.
- Casp Vanaclocha Ana, José Abril Requena. 2003. *Procesos de conservación de alimentos*. Editorial Mundi-Prensa. Pág.73, 491,492.
- Catalina Perez Maria. 200. *Micribiología Zinser*, 17 Edicion, pag.1.

- Chaquilla Quilca Guadalupe, Vinicio Torres Muñoz, María de Lourdes Ballinas Casarrubias María Guadalupe Gastélum Franco, Ramón, Silva Vázquez, Gpe. Virginia Nevárez-Moorillón. Niversidad.2000. Autónoma de Chihuahua, Facultad de Ciencias Químicas. Centro de Investigación en Recursos Naturales. Salaises, Chihuahua.
- Chhabra, P.; Huang, Y.; Frank, J.; Chmielewski,R.; Gates, K. 2006. Fate of *staphylococcus aureus*, *salmonella entericaserovartyphimurium*, and *vibrio vulnificus* in raw oysters treated with chitosan. J. Food Protect. 69, 952-959.
- Collings, M.D., and D. Jones. 1981. Distribution of iso prenoid quinone estructural types in bacteria and their taxonomic implications. Pág. 351
- Cousell, T.j., and R.G.E Murray. 1986. Polad lipid profiles of the genus *Deinococcus*. Int.J. Syst. Bacteriol. Pág., 202.
- De Cali Santiago et al., 2007Universidad del valle. Facultad de ciencias naturales y exactas. Departamento de Química. Programa de Maestría en Ciencias-Químicas.
- Del Ángel, L.A., Mauricio-Benavides, J. E., Garza-García, Charles-Rodríguez, A.
- Demming, J.W. 1987. Ecological strategies of barophilic bacteria in the deep ocean. Microbiol. Sci. 3: 205.
- Dickson, J.S., and R.B. Maxcy. 1984. Effect of radiolytic products on bacteria in food Sistem. pág. 557.
- Dorman HJD, Surai P, Deans SG. In vitro antioxidant activity of a number of plant essential oils and phytoconstituents. J. Essent. Oil Res. 2000; 12 (2): 241-248.
- Dominguez et al. 2003. Encerado de Hortalizas. Productores de la Hortaliza.Año 7 No. 2 México..Rev. Iber. Tecnologia Postcosecha Vol 5(2):128-133.

- EFSA. 2010. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008. Part A: *Campylobacter* and *Salmonella* prevalence estimates. EFSA J. 8,1503.
- Elss, 2005 Pulsos eléctricos de alta intensidad de campo en la conservación de alimento. © Edicions UPC, 2005.
- Esquivel F. Angélica, Vargas Pedro. Octubre - Diciembre 2007. Uso de aceites esenciales extraídos por medio de fluidos supercríticos para la elaboración de alimentos funcionales. Tecnología en Marcha. Vol. 20-4. Pág. 41-50.
- Fito Pedro, Pedro Fito Maupoey, Ana María Albors Sorolla, 2001. Introducción al secado de alimentos por aire caliente. Editorial Universidad Politécnica de Valencia. Pág. 7, 11.
- García Garibay Mariano, Rodolfo Quintero Ramírez, Agustín López-Munguía Canales. 2002. Editores LIMUSA. Biotecnología alimentaria. Pág. 15, 577.
- Gil Gabriela, Silvana del Mónaco, Patricia Cerrutti & Miguel Galvagno. 2004. Laboratorio de Microbiología Industrial, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Buenos Aires, Argentina
2 Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Laboratorio de Microbiología Industrial, Pabellón de Industrias, Ciudad Universitaria, 1428 Buenos Aires, Argentina.
- Gustavo V. Barbosa-Cánovas. 2005 TECNOLOGIAS EMERGENTES PARA LA CONSERVACION Y PRESERVACION DE ALIMENTOS POR METODOS NO-TERMICOS. Department of Biological Systems Engineering, Washington State University, Pullman, WA. USA. 99164-6120.
- Hernández Hernández E., E. Ponce-Alquicira, M.E. Jaramillo-Flores, I. Guerrero Legarreta. February 2009. Meat Science, Volume 81, Issue 2, Pages 410-417
Atrea, A. Papavergou, I. Amvrosiadis, I.N. Savvaidis. November 2008. Food Microbiology, In Press, Corrected Proof, Available online Iciar

- Astiasarán Anchia, Anchia I. Astiasaran.2003. Alimentos y nutrición en la práctica sanitaria Pág. 13.
- Hernandez-Lauzardo, A.; Bautista-Banos, S.;Velazquez-Del Valle, M.; Mendez-Montealvo, M.;Sanchez-Rivera, M.; Bello-Perez, L. 2008. Antifungal effects of chitosan with different molecular weights on in vitro development of *Rhizopusstolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. Carbohydr.Polym. 73, 541-547.
- J. Am., 2000. Diet Position of ADA "Food irradiation",. Assoc.;100:246-253.
- James M, Jay. 2000. Modern Food Microbiology. Sixth Edition.Editorial Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland. Pág. 254.
- Juran J.M. R.S. Bingham, Frank M. Gryna, José María Vallhonrat. 1983. Manual de Control de Calidad. Volumen 2 segunda edición. Editorial Reverte. Pág. 1016.
- Khaled F. El-tahlawya, Magda A. El-bendaryb, Adel G. Elhendawyc, Samuel M. Hudson.2005. The antimicrobial activity of cotton fabrics treated with different crosslinking agents and chitosan. A Textile Research División, National Research Center, Cairo, Egypt Microbial Chemistry Department, National Research Center, Cairo, Egypt Faculty of Specific Education, Tanta University, Cairo, Egypt Fiber and Polymer Science Program, North Carolina State University, Box 8301 2401 Research Dr., Raleigh NC 27695-8301, USA.
- Knorr D; Zenker M, Heinz V, Lee DU. Applications and potential of ultrasonics in food processing. Trends Food Sci. Tech. 2004;15:261-266.
- López A. Esnoz y F. Artes. 2003. Ciencia y tecnología dl frio. Editorial UPTC y CECYTEF, Pág. 299-310.
- López Citlalli Binnqüist, López, C., Susana Chanfón, Gerardo Segura, eds. 2005. La riqueza de los bosques mexicanos. Pág. 65.

- Madrid Vicente Antonio, Juana M. Gómez Pastrana, J.M. Madrid, 2003. Ediciones Mundi-Prensa. Refrigeración, congelación y envasado de los alimentos. Editorial. Pág. 5,42.
- María de la Cruz Paredes Aguilar/ María Guadalupe Gastelum Franco / Ramon Silva. Efecto antimicrobiano del Orégano (*Lippia Berlandieri Schauer*) y de su aceite esencial sobre 5 especies del género *Vibrio*. Revista Fitotecnia Mexicana. 2007. Sociedad Mexicana de Fitogenetica, A.C.
- Muntada- Garriga, J.M., Rodríguez-Jerez, J.J., López López-Sabater, E.I., Mora-Ventura, M., 1995. Effect of chill and freezing on survival of *Vibrio parahemolyticus* inoculated in homogenates of oyster meat. Lett. Appl. Microbiol. 20:225-227.
- Murano, E.A. 1995. Irradiation of the fresh meats. Food Technol. Pág. 52
- Musalem Santiago Salvador. 2007. Unidad de Comunicación Social. Revista electrónica de la Comisión Nacional Forestal.
- NMX-F-429-1983. Alimentos. Especies y condimentos. Orégano. Foods. Spices and condiments. Origan. Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- PALOU, E. Food preservation by high hydrostatic pressure. Processes variables and microbial inactivation, Ph.D. Dissertation, College of Engineering and Architecture, Washington State University, 1998.
- Palumbo, S.A., Williams, A.C., 1991. Resistance of *Listeria monocytogenes* to freezing in foods. Food Microbiol. 8:63-68.
- Pascual Anderson María del Rosario. 2005. Enfermedades de origen alimentario. Editorial. Díaz de Santos. Pág. 5, 7, 14,17.
- Pastoriza Enríquez, Laura. Sampedro Cedeira, Gabriel. Bernárdez Costas, Marta. López Cabo, Marta. Rodríguez Herrera, Juan Jose. 2003. Tecnología de los alimentos. Pág. 121.

- Plank R., Rafael Usón, H Engerth. 1984. El empleo del frío en la industria de la alimentación. Editorial Revertè. Pág. 166.
- QIN, B.L., POTHAKAMURY, U.R, BARBOSA-CÁNOVAS, G.Y., SWANSON, B.G. Nonthermal pasteurization of liquid foods using high-intensity pulsed electric fields. *c.R. Food Sei.*,36(6):603-627, 1996.
- Rangel Sarahí, María Hernández, Ramón Silva, Xochilt Ruelas, Ramiro López.2007. Aplicación Del Aceite Esencial De Orégano. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Nutrición y Alimentos.
- Ranken M. D.. 2003. Manual de industrias de la carne. Ediciones Mundi-Prensa Pág. 58.
- Roberts, T.A., and M.Ingram. 1965. The resistant of spores of Clostridium Botulinum Type E to heat and radation. Pág. 141.
- Sangronis, E., Pothakamury, U., Ramos, A. M., & Barbosa-Cánovas, G. V. (1997). La alta presión hidrostática: una alternativa en el procesamiento no térmico de alimentos. *Alimentaria* 35, 33-43.
- Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L; Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of multi-drug resistant organisms in healthcare settings, 2006. US Centers for Disease Control and Prevention.
- Takácsová M, Príbela A, Faktorová. Study of the antioxidative effects of thyme, sage, juniper and Orégano. *Die Nahrung*. 1995; 39: 241-243.
- Vázquez Martínez Clotilde, Ana Isabel Cos Blanco, Consuelo López Nomdedeu, Francisca Alcaraz Cebrián.2005. Alimentación y Nutrición 2da edición, editorial Díaz de santos Pág. 355.
- Velásquez Correa Gladys, Gladys Velásquez. 2006. Fundamentos de alimentación Saludable.Pag.6.

Villarán María del Carmen, 2007. Producción de oligosacáridos de quitosano mediante un reactor de membrana enzimática.

Webster J. 1986. Introduction to Fungi. 2° ed. Cambridge University Press, pág. 6.

Wolin, M. 1973. Tratado de microbiología. 20 Edición. Editorial Interamericana, México. Pág. 901.

www.conafor.com.mx fecha de consulta: 5 de Diciembre de 2008.

Yúfera Primo Eduardo, 2003. Química orgánica básica y aplicada. Tomo II. Universidad Politécnica de Valencia. Editorial Revertè. pag. 502-503.

Zapata Hernán. 2005. Presentado en el Congreso Científico Internacional ECI 2005. Departamento de Estudios generales. Lima, Perú.

Zhao J. et al. / *Biotechnology Advances* 23 (2005) 283–333.