



## Métodos de control de crecimiento microbiano en el pan

A.A. Salgado-Nava\* y M.T. Jimenez-Munguía

*Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla.  
Ex hacienda Sta. Catarina Mártir S/N, San Andrés Cholula, Puebla. C.P.72810. México.*

---

### Resumen

El pan como producto industrial, debe conservar su inocuidad por periodos de tiempo considerables, ya que debido a sus características físico-químicas es un alimento susceptible al deterioro por hongos y bacterias afectando así la salud del consumidor además de provocar pérdidas económicas a nivel industrial, por lo que debe tratarse bajo ciertos métodos de control de crecimiento microbiano. Se han llevado a cabo diversas investigaciones enfocadas a la inhibición del crecimiento microbiano en el pan, utilizando técnicas y tecnologías distintas a la adición de aditivos convencionales, en respuesta a la creciente demanda por parte del consumidor de los llamados "alimentos mínimamente procesados" (AMP) o con la menor cantidad de aditivos añadidos. El objetivo del presente artículo es hacer una recopilación de información acerca de los principales métodos de control de crecimiento microbiano propuestos actualmente, entre los que destacan atmósferas modificadas (usadas conjuntamente con absorbedores de oxígeno), la aplicación de ondas del espectro electromagnético y los antimicrobianos naturales tales como los aceites esenciales y las bacterias acido-lácticas (BAL). Se ha comprobado que tales métodos son más efectivos cuando son usados conjuntamente.

**Palabras clave:** deterioro, microorganismos, pan, control de crecimiento microbiano.

### Abstract

The bread as an industrial product must retain its safety for considerable periods of time; due to their physicochemical characteristics it is susceptible of food spoilage by fungi and bacteria and it may affect the health of consumers as well as causing economic losses to the industry level. If not treated with a control method microbial growth, several researches have been focused to the inhibition of microbial growth in the bread, using different technologies and techniques of conventional additives, in response to the increasing consumer demand for so-called "minimally processed foods" (AMP) or with the least amount of additives. The aim of this article is to gather information on the main control hurdle technologies proposed microbial growth, among which modified atmospheres (used in conjunction with oxygen scavengers), the application of the electromagnetic spectrum waves and natural antimicrobial such as essential oils and lactic acid bacteria. It has been found that such methods are most effective in combination.

**Keywords:** spoiled, microorganisms, bread, controlling microbial growth.

---

\*Programa de Maestría en Ciencia de Alimentos  
Tel.: +52 222 229 2126, fax: +52 222 229 2727  
Dirección electrónica: aida.salgadona@udlap.mx

## Introducción

El pan es sin duda un alimento que forma parte de la dieta de las personas alrededor del mundo sin importar su condición social; ya que en su forma más básica se elabora con harina, agua, sal, azúcar y levadura. Desde el punto de vista tecnológico, es un alimento muy complejo, ya que la velocidad con la que se presentan cambios físico-químicos en su estructura es muy rápida. El principal problema del pan es la pérdida de humedad de la miga (endurecimiento), ablandamiento de la corteza y cambio en su sabor, dichos fenómenos son conocidos como “envejecimiento”, causado fundamentalmente por la retrogradación del almidón (Badui, 2006). Además, debido a sus características físico-químicas el pan es susceptible de ser deteriorado por hongos (mohos y levaduras) y bacterias. Si bien, el horneado es una etapa en donde se eliminan tanto mohos como levaduras, una vez que el producto ha salido del horno, su manipulación debe de ser bajo condiciones estériles, ya que la contaminación por mohos se produce a través del aire (Stanley *et al.*, 2007). Se ha observado que los microrganismos que comúnmente causan deterioro en el pan son los géneros: *Penicillium* spp. y *Aspergillus* spp. (Moore *et al.*, 2008); por otro lado, las bacterias tienen la capacidad de sobrevivir al horneado (Pepe *et al.*, 2003; Ribotta y Tadini, 2009) incrementando el riesgo de causar daños en la salud del consumidor.

Desde hace ya varios años, se han llevado a cabo diversas investigaciones para poder asegurar la inocuidad del pan utilizando diversas tecnologías diferentes a la adición de conservadores convencionales, debido a la creciente demanda por la producción y consumo de los AMP. Se ha probado el uso de antimicrobianos naturales como los aceites esenciales de especias y plantas (López *et al.*, 2000; Nielsen y Rios, 2000; Suhr y Nielsen, 2003; Portillo *et al.*, 2008; Sahan, 2011), así

como también la bioconservación a partir de los metabolitos producidos por microorganismos como son las BAL (Adams, 1999; Lavermicocca *et al.*, 2000; Magunson *et al.*, 2003; Sjögren *et al.*, 2003; Hassan y Bullerman, 2008). Otras tecnologías emergentes son las atmósferas modificadas (Vermeiren *et al.*, 1999; Fernández, 2000). y las ondas del espectro electromagnético (Datta y Davidson, 2000; Guan *et al.*, 2003; Lakins *et al.*, 2008; Sperber y Doyle, 2009).

Adicionalmente, estas tecnologías se aplican en combinación con factores de inhibición para producir un efecto sinérgico (tecnología de obstáculos o barreras) y obtener mejores resultados en la inhibición de microorganismos contaminantes. Es por ello que el objetivo del presente artículo es hacer una recopilación de información acerca de los principales métodos de control de crecimiento microbiano en el pan que han propuesto diversos investigadores en las últimas décadas.

## Revisión bibliográfica

### 1. Generalidades del pan

El pan es un alimento que se consume desde tiempos muy remotos, actualmente, forma parte de la dieta tradicional de muchos hogares en casi todo el mundo, cada región le ha conferido características muy particulares. En Medio Oriente se elabora el pan pita (pan plano); en los países al este de Europa se acostumbra el pan de centeno con un sabor ligeramente ácido; en otras partes del mundo, el pan ácimo (pan sin levar) es el más común; la baguette de origen francés, con su muy particular corteza crujiente es mundialmente conocida y consumida, entre otros.

La NMX-F-516-1992, define al pan como un producto alimenticio cocido por horneado de la masa previamente fermentada, elaborada a

partir de harina de trigo, agua, sal, azúcar y levadura principalmente. Generalmente en la elaboración de pan se emplea la harina de trigo debido a las propiedades de sus componentes, destacando así de otros cereales como el centeno, maíz, cebada y arroz. En panificación se utilizan las harinas denominadas “duras”, ya que poseen un alto contenido de proteínas y juegan un papel importante en la formación de la masa panaria; estas proteínas a su vez están constituidas principalmente por gluteninas y gliadinas, quienes junto con el agua, los lípidos, y mediante un proceso de amasado, forman el llamado gluten, responsable de las propiedades de cohesividad y viscoelasticidad de la masa; de esta forma, el carácter del pan depende principalmente de la formación de la red tridimensional, la cual permite retener el gas producido por la fermentación de las levaduras, confiriéndole de esta forma la textura al pan.

El agua es un componente muy importante en la formulación del pan y su principal función radica en la hidratación de las proteínas y la formación del gluten. A su vez, la presencia de agua en la mezcla ayuda a hidratar los gránulos de almidón presentes en la harina, produciendo la gelatinización de estos gránulos durante el horneado (Badui, 2006).

La levadura que se utiliza en panadería es *Saccharomyces cerevisiae*, la cual produce dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y algunos subproductos. La principal ventaja de la adición de levaduras a una formulación panaria radica en la contribución de un sabor y aroma únicos (Cauvain, 2001).

La sal y la sacarosa también son indispensables en una formulación de pan, ya que además de conferirle sabor a la masa presentan otras propiedades funcionales, ya que la sal incrementa la fuerza del gluten, permite controlar la velocidad de fermentación debido a que retarda las reacciones generadas

por la levadura, sin embargo, un exceso de sal puede provocar que el gluten pierda la capacidad de ser elástico y/o que la fermentación se detenga por completo. Se recomienda utilizar este ingrediente en un porcentaje de 1.75 a 2.25% (Giannou *et al.*, 2003). La sacarosa se añade con la finalidad de que sea el sustrato de las levaduras durante la fermentación y ayuda al desarrollo del color en la corteza; adicionalmente, los azúcares actúan como agentes antiapelmazantes y como agentes antienvejecimiento, ya que contribuyen a la inhibición de la cristalización del almidón (Giannou *et al.*, 2003).

## 2. Deterioro microbiano del pan

En general, el pan es un producto que se deteriora rápidamente ya que presenta cambios en el sabor, pérdida de humedad de la migra y endurecimiento. Adicionalmente, los microorganismos pueden crecer en el pan, representando otro factor de deterioro decisivo en la vida útil de este alimento (Stanley *et al.*, 2007; Ribotta y Tadini, 2009). Las principales alteraciones microbiológicas son causadas por mohos y bacterias, teniendo una menor persistencia las provocadas por levaduras. A continuación se describen las particularidades de las alteraciones provocadas por microorganismos.

### 2.1 Deterioro por mohos

Debido a sus características, el pan es susceptible a la germinación de mohos. Una vez que el pan ha salido del horno, el riesgo se incrementa si no es manipulado bajo condiciones estrictamente asépticas, ya que el aire es el medio por el cual las esporas de mohos llegan a él (Stanley *et al.*, 2007). Su crecimiento depende de la temperatura, la concentración de oxígeno (son aerobios estrictos) en el empaque y la contaminación del pan previa al empacado (Guynot *et al.*, 2003; Nobile *et al.*, 2003). Es por ello que se debe de poner especial atención mientras es

enfriado, rebanado, envasado y almacenado. El proceso de deterioro se acelera si el pan es guardado dentro de un recipiente cerrado y todavía no está completamente frío (después de salir del horno), debido al vapor que se genera aumentando la humedad del ambiente en el que se encuentra (Stanley *et al.*, 2007).

El deterioro que causan los mohos se conoce como “enmohecimiento”, y se manifiesta con la aparición de manchas contrastantes en la superficie del pan. Los mohos que suelen encontrarse en el pan son por lo general varias especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* (Sahan, 2011) *Cladosporium*, *Fusarium* (Tarar *et al.*, 2010), *Mucor* y *Eurotium*; de ellos, los géneros más comunes presentes en el enmohecimiento son *Penicillium* y *Aspergillus* (Moore *et al.*, 2008).

El crecimiento de *Penicillium* es predominante, debido a su abundante producción de esporas y a su elevada presencia en el ambiente; la temperatura adecuada para su proliferación es a temperaturas bajas de 7 a 10 °C, mientras que la de *Aspergillus* y *Eurotium* es a temperaturas de 22 a 24 °C, de esta forma, la prevalencia de *Penicillium* se reduce, aumentando así la persistencia de los otros dos géneros mencionados (Gorcmen y Sahin, 1997).

Dentro del género *Penicillium* se han encontrado las especies *P. commune*, *P. crustosum*, *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum* (Nielsen y Rios, 2000; Moore *et al.*, 2008), siendo *P. roqueforti* la especie más importante dentro de este género, caracterizada por producir esporas de coloración verdosa (Jay, 2000); además, es más resistente que otras especies en condiciones adversas, ya que es capaz de crecer en un pH de 4 en presencia de propionato de calcio (Ryan *et al.*, 2008).

Las especies de *Aspergillus* que se han encontrado son: *A. flavus*, *A. versicolor* y *A. sydowii* (Nielsen y Rios, 2000). La especie más importante causante de deterioro dentro del género es *A. niger* la cual, produce esporas de diferentes colores que van desde verde hasta negro, en algunos casos produce un pigmento amarillo que se difunde en la superficie del pan (Jay, 2000).

## 2.2 Deterioro por bacterias y levaduras

Las bacterias son microorganismos que se han encontrado en la materia prima del pan (harina, azúcar y levaduras). Pattison *et al.* (2004) señalan que el crecimiento de bacterias en el pan es favorecido por climas cálidos (25-30 °C) y húmedos 40 a 60%.

A diferencia de los mohos y levaduras, el principal problema con las bacterias es que tienen la capacidad de sobrevivir al horneado, ya que al centro de la miga no se alcanzan los 100 °C y las esporas llegan a germinar durante el almacenamiento si encuentran las condiciones adecuadas (Pepe *et al.*, 2003; Ribotta y Tadini, 2009).

El deterioro que causan las bacterias en el pan se conoce como “hilado”. El hilado, comienza con el desarrollo de un desagradable olor dulce afrutado, seguido por una degradación enzimática de la miga (debido a la producción de amilasas y proteasas), la cual se convierte en suave y pegajosa con cambios en el color de la misma (Pepe *et al.*, 2003).

Las bacterias causantes del hilado son del género *Bacillus* spp. como *B. subtilis* (principalmente), *B. licheniformis*, *B. cereus*, *B. firmus*, *B. pumilus*, *B. clausii* (Pepe *et al.*, 2003) y *B. amyloliquefaciens* (Valerio *et al.*, 2012).

Por su parte, las levaduras implicadas en el

deterioro del pan son de dos tipos: las filamentosas y las fermentativas. Las primeras son las más comunes, presentan un crecimiento visible en la superficie del pan (manchas que pueden ser blancas, cremas o rosas), por lo que también son conocidas como “mohos tizosos” (su alteración es muy parecida a la producida por mohos, por lo que suelen causar confusión) y afectan a productos de alta actividad de agua. Las segundas ocasionan un deterioro fermentativo manifestado por una producción irregular de alcohol y/o de gases y afectan a productos con una baja actividad de agua, como el *pudding* de navidad (Ribota y Tadini, 2009).

Las levaduras que causan deterioro en pan son: *Saccharornycopsis fibuligera*, *Candida guilliermondii*, *Hansenula anomala*, *Debaromyces hansenii*, *Candida parapsilosis*, *Serratia marcescens*, *Endomyces fibuliger* *Zygosaccharomyces rouxii*, y *Pichia burtonii* (Stanley *et al.*, 2007).

De ellas, se ha divulgado más ampliamente el deterioro que causan las especies *S. marcescens*, *E. fibuliger* *Z. rouxii*, y *P. burtonii* como se menciona a continuación. En panificación, la especie *S. marcescens* causa el deterioro conocido como “pan rojo” debido a que este microorganismo tiene pigmentos rojos brillantes. *E. fibuliger* ocasiona que el pan tenga una apariencia de yeso en la superficie, debido a la generación de manchas blancas producidas por el microorganismo (Jay, 2000). Existen reportes de que *P. burtonii* es más resistente a conservadores que otros microorganismos deteriorativos (Stanley *et al.*, 2007).

En repostería, la especie *Z. rouxii* al ser una levadura osmotolerante, causa deterioro en productos con alto contenido de azúcar (Ribota y Tadini, 2009).

### 3. *Métodos para la prevención del crecimiento microbiano en pan*

El método tradicional de prevención del crecimiento de microorganismos en el pan ha sido la adición de antimicrobianos sintéticos en la formulación; sin embargo, desde hace algunas décadas se han estado implementando diversas técnicas y tecnologías diferentes ésta, debido a problemas de resistencia microbiana. Aunado a lo anterior, la creciente tendencia a la producción y consumo de los AMP ha llevado a combinar ciertos factores de conservación para lograr una sinergia entre ellos y así obtener mayor estabilidad y calidad sensorial en el producto durante el almacenamiento. A esta técnica se le conoce como “tecnología de obstáculos o de barreras”. Los obstáculos comúnmente usados en la preservación de alimentos son la temperatura (alta o baja), la actividad de agua ( $a_w$ ), la acidez (pH), el potencial redox (Eh), los conservadores sintéticos, los microorganismos competitivos así como sus metabolitos; métodos no térmicos como los pulsos eléctricos, ondas del aspecto electromagnético; además de las atmósferas modificadas o controladas, altas presiones, entre otros. (Leistner, 2000)

A continuación se hace una revisión de los métodos utilizados para la prevención del crecimiento microbiano en pan.

#### 3.1 *Uso de antimicrobianos*

Las características que debe presentar un buen antimicrobiano son: poseer un amplio espectro de acción, no ser tóxico, ser efectivo a bajas concentraciones, no afectar la calidad sensorial de los productos (olor y sabor), poseer una buena solubilidad, conservar su estabilidad en las condiciones de proceso y durante el almacenamiento, no intervenir en los procesos

fermentativos y ser de bajo costo (Ribotta y Tadini, 2009).

### 3.1.1 Convencionales

Entre los conservadores sintéticos más usados en el pan se encuentran: el ácido sórbico y sus sales (sorbatos), el ácido propiónico y sus sales (propionatos) y los parabenos.

Los propionatos son los más adecuados en panificación debido a que su actividad sobre las levaduras es mínima, permitiendo así una buena fermentación de la masa; específicamente, ellos inhiben el crecimiento de bacterias y mohos. De los propionatos, destacan dos tipos: el propionato de sodio y el propionato de calcio; ambos tienen la misma actividad, sin embargo, cuando en la formulación también hay carbonatos o bicarbonatos, se recomienda la utilización del propionato de sodio, porque el propionato de calcio interfiere con la producción de dióxido de carbono. La concentración permitida es de 0.3% dentro de la formulación (Badui, 2006; Stanley *et al.*, 2007).

Respecto al ácido sórbico, éste no sólo inhibe la actividad de los mohos, sino que también la de las levaduras, por lo tanto, no debe añadirse a la masa. Su adición se realiza una vez que el pan ha sido horneado por aspersión sobre la superficie del producto. Otro inconveniente es que no resulta efectivo para inhibir el desarrollo de mohos en productos porosos o con superficies irregulares, la cantidad permitida en una formulación de pan es del 1 a 6% en solución acuosa (asperjado en la superficie inmediatamente después del horneado). Se debe de considerar que la actividad antimicrobiana del ácido sórbico aumenta a medida que disminuye el pH (Ribotta y Tadini, 2009).

Los parabenos son ésteres alquílicos del ácido p-hidroxibenzoico, sus formas más comunes

son metil y propilparabenos. Son menos utilizados en la industria de la panificación debido a que son más efectivos contra mohos y levaduras que contra bacterias. Se usan en concentraciones de 0.01 a 0.1 g/100g (Chung *et al.*, 2001).

### 3.1.2 Naturales

#### 3.1.2.1 Aceites esenciales

Las propiedades antimicrobianas de hierbas y especias han sido reconocidas y usadas desde la antigüedad (Conner, 1993); recientemente ha vuelto a surgir interés en la preservación “natural” de alimentos a partir de la tendencia hacia el consumo y producción de los AMP.

Diversas investigaciones han reportado el efecto antifúngico de fuentes naturales como son especias, hierbas, plantas o microorganismos. Entre las especias con sustancias activas destacan el tomillo, laurel, orégano, canela, clavo y ajo, debido a su amplio espectro contra microorganismos patógenos y deteriorativos (López *et al.*, 2000; Nielsen y Rios, 2000; Sahan, 2011).

Las sustancias activas de los aceites esenciales son de diversos tipos, compuestos como el timol, eugenol, aldehídos, cetonas, alcoholes y otros hidrocarburos presentan alta actividad antimicrobiana debido a sus grupos fenólicos (Dorman y Deans, 2000; Özcan y Boyraz, 2000). En la Tabla I se enlistan los principales compuestos activos identificados por Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) encontrados en el aceite esencial de algunas plantas y especias (Suhr y Nielsen, 2003). Una de las sustancias que se ha demostrado que posee gran actividad antifúngica es el alil isotiocianato presente en el aceite esencial de mostaza (contiene de un 90 a 95% de la sustancia activa), ya que evita cualquier proliferación de mohos (Nielsen y Rios, 2000; Suhr y Nielsen, 2003; Sikes *et al.*, 2005).

**Tabla I.** Principales compuestos activos de aceites esenciales de plantas y especies obtenidos por GC-Ms.

Aceite esencial	Principales componentes	Contenido (%)
Laurel	$\alpha$ -Pineno	8 a 42
	D-Limoneno	2
	Linalol	2 a 33
	Carvicol	23 a 78
	Eugenol	31 a 88
Canela	Cinamaldehído	1 a 88
	Eugenol	71 a 92
	Benzil-benzoato	5 a 53
Clavo	Cariofileno	4 a 65
	Eugenol	52 a 84
Hierba limón	D-Limoneno	3 a 14
	Gerianol	4 a 20
	Geranial (citra a)	31 a 93
	Neral (citra b)	45 a 99
Mostaza	Alil isotiocinato	99 a 100
Naranja	$\beta$ -Mirceno	2 a 24
	D-Limoneno	68 a 95
	Linalol	0 a 33
Salvia	$\alpha$ -Pireno	11 a 85
	D-Limoneno	10 a 30
	Eucaliptol	24 a 93
	Alcanfor	22 a 53
Tomillo	Timol	52 a 89
	Carvacol	3 a 54
Romero	$\alpha$ -Pireno	17
	Eucaliptol	18 a 59

Adaptado de Suhr y Nielsen (2003).

La selección del antimicrobiano natural así como la dosis del mismo dependerán de la naturaleza del alimento con el que interactuará, por lo que se tienen que considerar sus características sensoriales (sabor y olor), composición, pH y  $a_w$  (López *et al.*, 2000).

Existen diversos métodos para la aplicación de los compuestos activos de los aceites esenciales; ellos se pueden adicionar directamente al alimento o crear una microatmósfera conteniendo el aceite esencial en fase gas (Nielsen y Rios, 2000; Portillo *et al.*, 2008).

Se ha reportado que el efecto antifúngico de los aceites esenciales depende del método de aplicación, los compuestos fenólicos como el timol y el eugenol (de tomillo, canela y clavo) muestran mejores resultados si son adicionados directamente a los alimentos, mientras que el citral y el alil isotiocianato (hierba de limón y mostaza, respectivamente) son más efectivos cuando son aplicados como extractos volátiles (Suhr y Nielsen, 2003).

La efectividad antifúngica de los aceites esenciales ha sido probada en pan. En un estudio llevado a cabo por Sikes *et al.* (2005) se comprobó la efectividad del aceite esencial de mostaza en el control del crecimiento microbiano en pan; la aplicación del aceite esencial fue en fase gas y la dosis recomendada por los autores es de 200 ppm.

Algunos investigadores han optado por combinar ciertos factores de conservación; así, Nielsen y Rios (2000) utilizaron la tecnología de los envases activos en combinación con los extractos volátiles de aceites esenciales de diversas especies tales como canela, ajo, clavo, vainilla, orégano y mostaza sobre pan recién horneado. Probaron dosis en un rango de 1.8 a 3.5 µg/ml de cada una de las sustancias activas en *P. commune*, *P. roqueforti*, *A. flavus* y *E. fibuliger*, en donde el aceite esencial de mostaza fue el mejor inhibidor de crecimiento microbiano, requiriendo concentraciones menores respecto de las demás especies. Portillo *et al.* (2008) probaron el efecto sinérgico del aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia berlandieri*) en combinación con la disminución de la actividad de agua del pan para inhibir el crecimiento de tres mohos: *Rhizopus*, *Penicillium* y *Aspergillus*; de esta forma, ellos lograron obtener mejores resultados, ya que extendieron su vida útil considerablemente. Las concentraciones recomendadas fueron 100, 150 y 200 ppm.

### 3.1.2.2 Biopreservación

En años recientes, se ha presentado un creciente interés en la biopreservación de alimentos. Diversas investigaciones señalan que algunos de los metabolitos que producen ciertos microorganismos presentan actividad antimicrobiana, como ocurre con la nisin, pediocina y otras bacteriocinas como la pimaricina, subtilina y natamicina (Saranraj y Gueetha, 2011); de ellos destacan las BAL ya que han sido la forma más común de conservación, a partir de ellas se han transformado gran cantidad de alimentos gracias a la fermentación.

Las BAL son de particular interés, ya que son capaces de producir diferentes tipos de moléculas bioactivas, tales como ácidos orgánicos, ácidos grasos, peróxido de hidrógeno, diacetil, reuterina, dióxido de carbono y bacteriocinas capaces de inhibir la microbiota indeseable, al mismo tiempo le confieren al alimento características de “flavor” muy singulares. Las incluyen géneros como *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Canobacterium*, *Aerococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weisella* (Adams, 1999). Se han llevado a cabo investigaciones que confirman la actividad antimicrobiana de dichas bacterias (Adams, 1999; Lavermicocca *et al.*, 2000; Magunson *et al.*, 2003; Sjögren *et al.*, 2003; Hassan y Bullerman, 2008).

En panificiación, es una práctica común adicionar BAL a la masa madre para así asegurar su estabilidad desde el comienzo hasta el final del proceso. Algunas bacterias como *Lactobacillus sakei* KTU05-6 resiste tratamientos térmicos hasta de 100 °C durante un periodo de 60 minutos (Digaitiene *et al.*, 2012); además, se ha observado que ellos presentan un efecto sinérgico con el

propionato de calcio (PC) en la inhibición del crecimiento microbiano indeseable. Ryan *et al.* (2008) determinaron el efecto antifúngico de *Lactobacillus plantarum* en la masa madre del pan y lograron inhibir el crecimiento de *A. niger*, *Fusarium culmorum* y *P. expansum*; sin embargo, el crecimiento de *P. roqueforti* no se vió afectado. Por lo tanto, hicieron una combinación de bacterias ácido lácticas y PC; así consiguieron un efecto sinérgico sobre *P. roqueforti*, ya que el PC, por sí solo (en concentraciones de 3000 ppm) no detuvo el crecimiento del moho mencionado. En otro estudio, Gerez *et al.* (2009) analizaron 95 especies de bacterias, encontrado que cuatro de ellas presentaban actividad antimicrobiana: *L. plantarum* CRL 778, *Lactobacillus reuteri* CRL 1100 y dos subespecies de *Lactobacillus brevis* (CRL 772 y CRL 796). Los compuestos activos de estas bacterias son ácidos orgánicos como el láctico, acético, propiónico y el fenilacético. Dichos investigadores estudiaron su aplicación en pan, adicionando las bacterias en la masa madre. Los resultados revelaron su efectividad como inhibidores de crecimiento microbiano, aunque obtuvieron mejores resultados si las combinaban con PC, pudiendo reducir la dosis del conservador sintético utilizada habitualmente en panificación hasta en un 50%.

### 3.2. Atmósferas modificadas

El envasado con atmósfera modificada consiste en introducir el alimento en una película de alta barrera en la que ha sido modificado el ambiente gaseoso para disminuir la velocidad de respiración del alimento, el crecimiento microbiano y retardar el deterioro así enzimático, con el propósito de alargar la vida útil del producto. Generalmente, los gases que se utilizan son dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y nitrógeno ( $\text{N}_2$ ) disminuyendo el porcentaje de oxígeno ( $\text{O}_2$ ) (Galic *et al.*, 2009).

El dióxido de carbono es el gas más importante en el envasado bajo atmósferas modificadas, ya que presenta propiedades bacteriostáticas y fungísticas. Se ha reportado que a concentraciones bajas (5-10%) del gas se puede evitar el crecimiento de mohos y bacterias. Existen factores que contribuyen a la eficacia del dióxido de carbono, uno de ellos es la eliminación completa del oxígeno de la atmósfera (Galic *et al.*, 2009).

Ya que el oxígeno residual en envases con atmósferas modificadas representa del 1 al 2%, y debido a que estas concentraciones permiten el crecimiento de mohos, se ha recurrido al uso de una tecnología complementaria: los materiales absorbidores de oxígeno. Dichos materiales se clasifican en metálicos y no metálicos. Dentro de los metálicos, el material más utilizado son las sales ferrosas (debido a su bajo costo) las cuales reaccionan con el oxígeno para formar óxido de hierro bajo determinadas condiciones de humedad; de esta forma, se tiene un agente reductor metálico hidratado que secuestra el oxígeno dentro del envase del producto, convirtiéndolo irreversiblemente en un óxido estable. Dentro de los no metálicos se incluyen a los que usan agentes reductores orgánicos tales como el ácido ascórbico, sus sales y el catecol (Ahvenainen, 2003).

El absorbador de oxígeno se introduce al empaque y reduce el oxígeno a niveles menores al 0.01%, manteniendo el nivel por períodos prolongados (Vermeiren *et al.*, 1999). Además, ellos no producen ningún efecto sobre la calidad sensorial del pan durante el almacenamiento (Fernández, 2000). Vermeiren *et al.* (1999) reportaron la efectividad de la aplicación de estas dos tecnologías en la conservación de pan, ya que lograron retardar el crecimiento microbiano del producto más de 60 días.

### 3.3. Ondas del espectro electromagnético

Se han investigado diversos métodos para destruir la contaminación una vez que el pan ha sido horneado, dichos métodos son: radiación ultravioleta, radiación infrarroja, calentamiento por microondas y radiofrecuencias. Se ha estudiado la región ultravioleta del espectro (longitudes de onda menores a 450 nm), encontrándose que son más efectivos los niveles de longitud de onda de 260 nm. Las radiaciones ultravioleta (UV) son de baja penetración, siendo adecuadas para tratamientos en productos de panificación, sin embargo, en repostería, son ineficaces (Ribotta y Tadini, 2009). Mediante las ondas del espectro electromagnético se alcanzan temperaturas de hasta 70 °C en el pan, lo cual es suficiente para destruir a la mayoría de las bacterias y mohos contaminantes. La radiación UV puede penetrar empaques transparentes para destruir los mohos contaminantes sin la generación de calor, que provocan la condensación de vapor de agua en el empaque, siendo esto una ventaja sobre otros métodos. El tratamiento es efectivo en productos suaves, con superficies regulares y consecuentemente el efecto se ve reducido en productos con características contrarias, ya que la radiación UV no puede penetrar adecuadamente (Sperber y Doyle, 2009).

La literatura señala que la destrucción de microorganismos mediante la aplicación de microondas es posible debido a que se daña la membrana celular de los mismos (Datta y Davidson, 2000).

Diversas investigaciones se han llevado a cabo para determinar si el calor electromagnético puede ser usado para esterilizar o pasteurizar alimentos (Guan *et al.*, 2003). Lakins *et al.* (2008) utilizaron microondas para inhibir el crecimiento microbiano en pan blanco, el tratamiento fue breve (10 s a 2.45 GHz y 12.2 cm de longitud de onda) y se aplicó al producto previamente

empacado. Ellos encontraron que el tratamiento con microondas mantiene el pan empacado 60 días con un mínimo crecimiento de mohos. Respecto a la calidad del pan, reportaron pérdida de humedad, la cual, no fue percibida sensorialmente.

Se han reportado tratamientos llevados a cabo con radiofrecuencias (RF) en pan horneado, han logrado reducir 4 ciclos logarítmicos de esporas inoculadas de *Penicillium* ssp. y *Aspergillus* ssp. durante 10 días de almacenamiento; sin embargo, el uso del método provoca cambios en la calidad, debido a que en la superficie del pan tratado se produce una condensación de vapor de agua como resultado de la diferencia de temperaturas entre el pan y el aire circundante, ya que éste no se calienta durante el tratamiento (Liu *et al.*, 2011). Por lo tanto, los autores combinaron el tratamiento de RF (6 kW, 27.12 MHz) con la aplicación de aire caliente convencional (58 °C durante 1.8 min) para lograr uniformidad en el calentamiento. Ellos lograron extender la vida útil del pan por 28 días después del tratamiento, almacenandolo a una temperatura de 23 °C.

### Conclusiones y comentarios finales

Actualmente, es posible obtener pan de alta calidad y seguro desde el punto de vista microbiano por largos períodos. En las últimas décadas se ha probado la eficacia de diversos métodos de control de crecimiento microbiano distintos a los conservadores convencionales. Dentro de estos métodos destacan los antimicrobianos naturales, atmósferas modificadas y absorbedores de oxígeno, así como la aplicación de ondas del espectro electromagnético y el uso de bacterias ácido-lácticas. Se ha comprobado que en algunos casos, tales métodos son más efectivos utilizados conjuntamente.

## Agradecimientos

El presente artículo de revisión no podría ser posible sin el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) así como de la Universidad de las Américas Puebla.

Además, se agradece a la Dr. María Eugenia Bárcenas Pozos, Dr. Emma Mani López, a la Dr. Aída Irma Gómez Sánchez y a la Dra. María Teresa Jimenez Munguía, por su valioso apoyo en el desarrollo y revisión del presente artículo.

## Referencias

- Adams, M. R. 1999. Safety of industrial lactic acid bacteria. *Journal of Biotechnology*. 68:171-178.
- Ahvenainen, R. 2003. *Novel food packaging techniques*. Primera edición. CRC Press LLC. EE.UU. 521 p.
- Badui, D. 2006. *Química de los alimentos*. Cuarta edición. Pearson educación. México. 716 p.
- Cauvain, S. P. 2001. *Cereals processing technology*. Ed. G. Owens. Primera edición. Woodhead Publishing Limited. England. 238 p.
- Chung, D., Papadakis, S. y Yam, K. 2001. Release of propyl paraben from a polymer coating into water and food simulating solvents for antimicrobial packaging application. *Journal of Food Processing and Preservation*. 25:71-87.
- Conner, D. E. 1993. *Naturally occurring compounds in antimicrobials in Food*. Davidson, P.M. and Branen, A.L. Primera edición. New York: Marcel Dekker. 468 p.
- Datta, A. K. y Davidson, P. M. 2000. Microwave and radio frequency processing. *Journal of Food Science* 65:32-41.
- Digaitiene, A., Hansen, A. S., Juodeikiene, G., Eidukonyte, D. y Josephsen, J. 2012. Lactic acid bacteria isolated from rye sourdoughs produce bacteriocin-like inhibitory substances active against *Bacillus subtilis* and fungi. *Journal of Applied Microbiology*. 112(4):732-742.
- Dorman, H. J. D. y Deans, S. G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology* 88:308-316.
- Fernández, A. M. 2000. Review: active food packaging. *Food Science and Technology International*. 6:97-108.
- Fujikawa, H., Ushioda, H. y Kudo, Y. 1992. Kinetics of *Escherichia coli* destruction by electromagnetic pasteurization. *Applied and Environmental Microbiology* 58(3):920-924.
- Galic, K., Curic, D. y Gabric, D. 2009. Shelf life of packaged bakery good. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 49:405-426.
- Gerez, C. L., Torino, M. I., Rollán, G. y Font de Valdez, G. 2009. Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. *Food Control*. 20:144-148.
- Giannou, V., Kessoglou, V. y Tzia, C. 2003. Quality and safety characteristics of bread made from frozen dough. *Food Science and Technology*. 14:99-108.
- Goremen, D. y Shanin, D. 1997. Investigations of mould in microflora of bread and similar bakery products. *Advance Food Science*. 19:100-103.
- Guan, D., Gray, P., Kang, D. H., Tang, J., Shafer, B., Ito, K., Younce, F. y Yang, T. C. S. 2003. Microbiological validation of electromagnetic pasteurization-circulated water combination heating technology by inoculated pack studies. *Journal of Food Science*. 68(4):1428-32.
- Guynot, M. E., Sanchis, V., Ramos, A. J. y Marín, S. 2003. Mold-free shelf-life extension of bakery products by active packaging. *Journal of Food Science*. 68(8):2547-2552.
- Hassan, Y. I. y Bullerman, L. B. 2008. Antifungal activity of *Lactobacillus paracasei* ssp. *tolerans* isolated from a sourdough bread culture. *International Journal of Food Microbiology*, 121:112-115.
- Jay, J. M. 2000. *Microbiología moderna de los alimentos*. Cuarta edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España. 790 p.
- Lakins, D. G., Echeverry, A., Alvarado, C. Z., Brooks, J. C., Brashears, M. T. y Brashears, M. M. 2008. Quality of and mold growth on white enriched bread for military rations following directional microwave treatment. *Journal of Food Science*. 73(3):99-103.
- Lavermicocca, P., Valerio, F., Evidente, A., Lazzaroni, S., Corsetti, A. y Gobetti, M. 2000. Purification and

- characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. *Applied Environmental Microbiology*. 66:4084-4090.
- Leistner, L. 2000. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. Review. *International Journal of Food Microbiology* 55:181–186.
- Liu, Y., Tang, J., Mao, Z., Mah. J. H., Jiao, S. y Wang, S. 2011. Quality and mold control of enriched white bread by combined radio frequency and hot air treatment. *Journal of Food Engineering*. 104:492–498.
- López, M. A., Alzamora S. M. y Guerrero, S. 2000. Natural Antimicrobials from Plants. En *Minimally Processed Fruits and Vegetables .Fundamentals and Applications*. Eds. SM Alzamora, MS Tapia y A López-Malo. Gaithersburg, Maryland, An Aspen Publication. 235 p.
- Magunson, J., Ström, K., Roos, S., Sjögren, J. y Schnürer, J. 2003. Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*. 219: 129–135.
- Moore, M. M., Dal Bello, F. y Arendt, E. K. 2008. Sourdough fermented by *Lactobacillus plantarum* FST 1.7 improves the quality and shelf life of gluten-free bread. *European Food Research Technology*. 226:1309-1316.
- Nielsen, P. V. y Rios, R. 2000. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs and the possible application in active packaging with special emphasis on mustard essencial oil. *International Journal of Food Microbiology*. 60:219-229.
- Nobile, M. A., Martoriello, T., Cavella, S., Giudici, P. y Masi, P. 2003. Shelf life extension of durum wheat bread. *Journal of Food Science*. 15(3):383-393.
- Norma Mexicana NMX-f-516-1992. Alimentos. Productos de panificación. Clasificaciones y definiciones. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. México.
- Özcan, M. y Boyraz, N. 2000. Antifungal properties of some herb decoctions. *European Food Research and Technology*. 212:86-88.
- Pattison, T., Lindsay, D. y Von Holy, A. 2004. Natural antimicrobials as potential replacements for calcium propionate in bread. *South African Journal of Science*. 100:342-348.
- Pepe, O., Blaiotta, G., Moschetti, G., Greco, T. y Villani, F. 2003. Rope-producing strains of *Bacillus* spp. from wheat bread and strategy for their control by lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(4):2321-2329.
- Portillo, R. M. C., Viramontes, R. S, Gastélum, F. M. G., Muñoz, C. L., Torres M. J. y Nevárez M. G. 2008. Efecto antifúngico de aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Shauer) sobre hongos contaminantes en productos de panadería. Tercera Reunión Nacional sobre orégano. Saltillo, Coahuila, México, 24 de Agosto.
- Ribotta, P. D. y Tadini, C. C. 2009. *Alternativas tecnológicas para la elaboración y la conservación de productos panificados*. Primera edición. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. 327 p.
- Ryan, L. A. M., Dal Bello, F. y Arendt, E. K. 2008. The use of sourdough fermented by antifungal LAB to reduce the amount of calcium propionate in bread. *International Journal of Food Microbiology*. 125:274-178.
- Sahan, Y. 2011. Effect of *Prunus laurocerasus* L. (Cherry Laurel) leaf extracts on growth of bread spoilage fungi. *Bulgarian Journal of Agriculture Science*. 17(1):83-92.
- Saranraj, P. y Gueetha, M. 2011. Microbial spoilage of bakery products and its control by preservatives. Review. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives*. 3(1):38-48
- Sikes, A., Yang, T., Richardson, M. y Ehioba, R. 2005. Antifungal activity of volatile oil of mustard (VOM). U.S. Army Research, *Development and Engineering Command Natick Soldier Center*. Massachusetts 01760-5018.
- Sjögren, J., Magnusson, J., Broberg, A., Schnürer, J. y Kenne, L. 2003. Antifungal 3- hydroxy fatty acids from *Lactobacillus plantarum* MiLAB 14. *Applied and Environmental Microbiology*, 69:7554–7557.
- Sperber, W. H. y Doyle, M. P. 2009. *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages*. Primera edición. Springer Science+Business Media. EE.UU. 367 p.
- Stanley, P., Cauvain S. P. y Young, L. S. 2007. *Technology of bread making*. Second edition. Springer Science+Business Media. New York. E.E.U.U. 389 p.
- Suhr, K. I. y Nielsen, P. V. 2003. Antigungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *Journal*

- of Applied Microbiology*. 4:665-674.
- Tarar, O. M., Rehman, S., Mueen-Ud-Din, G. y Murtaza, M. A. 2010. Studies on the shelf life of bread using acidulants and their salts. *Turkish Journal of Biology*. 34,133-138.
- Valerio, F., De Bellis, P., Di Biase, M., Lonigro, S. L., Giussani, B., Visconti, A., Lavermicocca, P. y Sisto, A. 2012. Diversiy of spore-forming bacteria and identification of *Bacillus amyloliquefaciens* as a species frequently associated with the ropy spoilage of bread. *International Journal of Food Microbiology* 156(3):278-285.
- Vermeiren, L., Devlieghere, F., Van Beest, M., De Kruijf, N. y Debevere, J. 1999. Developments in the active packaging of foods. *Trends of Food Science and Technology* 10:77-86.