



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 277 844**

51 Int. Cl.:
A23B 4/24 (2006.01)
A23L 3/358 (2006.01)
A01N 59/26 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **00950457 .2**
86 Fecha de presentación : **20.07.2000**
87 Número de publicación de la solicitud: **1198179**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **24.04.2002**

54 Título: **Polifosfatos antimicrobianos en elaboración de alimentos.**

30 Prioridad: **22.07.1999 US 145151 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.08.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.08.2007

73 Titular/es: **ASTARIS L.L.C.**
622 Emerson Road, Suite 500
St. Louis, Missouri 63141, US

72 Inventor/es: **Henson, Lulu, S.;**
Manley, Robert, V. y
Fennewald, Kevin, J.

74 Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Polifosfatos antimicrobianos en elaboración de alimentos.

5 **Campo de la invención**

Esta invención se refiere a polifosfatos y su uso en la represión del crecimiento de bacterias. En particular, esta invención se refiere al uso de polifosfatos antimicrobianos para reprimir el crecimiento de bacterias en alimentos o durante la elaboración de alimentos.

10 **Antecedentes de la invención**

En esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones, a no ser que el contexto indique otra cosa, “alimento” significa cualquier dispersión, suspensión o emulsión líquida, sólida, semi-sólida, con inclusión de las controladas por el Acta Federal de Alimentos, Fármacos y Cosméticos, que puede ser consumida por mamíferos (con inclusión de animales y humanos), peces y otros seres marinos, así como aves, tengan o no valor nutritivo, y que son susceptibles de crecimiento microbiano. Por consiguiente, “alimentos” incluyen sustancias proteínicas y/o carbohidratos, bebidas, aceites comestibles y agua, con inclusión de agua consumible directamente, v.g., agua embotellada, y agua utilizada para preparar, elaborar o transportar otras formas de alimentos.

La contaminación bacteriana de los alimentos es un problema importante en la industria de elaboración de alimentos. Las bacterias deben ser reprimidas a todo lo largo del proceso de elaboración de los alimentos, por ejemplo: (1) tratamiento superficial de los alimentos para desinfectar la superficie y destruir los organismos de la pudrición y patógenos localizados en la superficie del alimento; (2) en las plantas de elaboración de alimentos, tales como plantas de elaboración de productos lácteos, carnes, y aves de corral, para destruir los organismos de la pudrición y patógenos en el equipo de elaboración de los alimentos; y (3) en el alimento elaborado para prevenir el crecimiento de organismos de la pudrición y patógenos durante la distribución y el almacenamiento.

Para reprimir las bacterias en las plantas de elaboración de alimentos se utilizan oxidantes fuertes, tales como ácido peracético y peróxido de hidrógeno. Véase, por ejemplo, Chen, Patente U.S. 5.641.530, que describe el uso de mezclas que comprenden peróxido de hidrógeno como desinfectantes en aplicaciones relacionadas con alimentos. Sin embargo, los oxidantes fuertes plantean un riesgo para el usuario debido a que pueden atacar la piel. El peróxido de hidrógeno no puede incorporarse en alimentos elaborados para protegerlos contra la contaminación y el crecimiento bacterianos durante el almacenamiento y la distribución. Las soluciones de ácido peracético son ácidas y pueden corroer el equipo. El ácido peracético se descompone para dar ácido acético, que puede afectar desfavorablemente al sabor y el olor del alimento. Otros productos de limpieza tienen típicamente un pH de 10,5 a 12 y es probable que deterioren la piel, los ojos, y los conductos respiratorios por contacto o inhalación.

Guthery, Patente U.S. 5.364.650, da a conocer un método para desinfectar canales de animales por inmersión de las mismas en una solución que comprende ácidos grasos alifáticos de cadena media, un agente quelante, y ácido clorhídrico. Esta solución es ácida y potencialmente nociva para la piel, los ojos, y los conductos respiratorios. Bender, Patente U.S. 5.635.231, da a conocer un método para desinfectar canales de animales por tratamiento de las mismas con un ortofosfato de metal alcalino y vapor. Este método es difícil de utilizar debido a la necesidad de generar vapor y la alta concentración de fosfato de metal alcalino requerida para la eficacia.

El documento US-A-4.431.679 da a conocer una composición de tratamiento de pescado que comprende 14% a 90% de polifosfato y ácido cítrico.

El ácido láctico y sus sales de sodio y potasio se incorporan en alimentos como antimicrobianos. Sin embargo, se requiere al menos 2% en peso, y típicamente 3% en peso, de ácido láctico, lo cual puede afectar desfavorablemente al sabor. Si se añade ácido láctico, el pH reducido producido por el ácido láctico añadido puede reducir también la capacidad de retención de agua de la carne.

Así pues, existe necesidad de materiales no corrosivos que puedan utilizarse para reprimir las bacterias en la superficie de los alimentos, en las plantas de elaboración de alimentos, y que puedan incorporarse en los alimentos para proteger los mismos contra la contaminación y el crecimiento de bacterias durante el almacenamiento y la distribución.

Sumario de la invención

Esta invención se refiere a un método para prevenir el crecimiento de bacterias en carne, aves, y mariscos de acuerdo con las reivindicaciones 1-3.

Se ha descubierto que pueden utilizarse tratamientos de ortofosfato, tripolifosfato, pirofosfatos ácidos, polifosfatos, y pirofosfato de metal alcalino, sea aisladamente o en forma de mezclas de los mismos, para reducir y reprimir diversas clases de microorganismos, específicamente aquellos que son importantes para la seguridad y la pudrición de alimentos durante la elaboración, el almacenamiento, y la distribución. Organismos gram-negativos pertenecientes a, pero sin carácter limitante, los géneros *Escherichia*, *Salmonella*, y *Pseudomonas*, se ven afectados por regla general desfavorablemente por composiciones que son alcalinas y contienen polifosfatos. Los organismos gram-positivos

pertenecientes, pero sin carácter limitante, a los géneros *Staphylococcus* y *Listeria* se ven afectados por lo general desfavorablemente por composiciones que contienen polifosfatos y son alcalinas o neutras. Dado que estas composiciones reprimen los patógenos en condiciones de pH prácticamente neutro utilizando preparaciones muy diluidas, se reducen los cambios fisicoquímicos (color, textura, sabor, retención de nutrientes) que pueden ocurrir en condiciones fuertemente alcalinas o fuertemente ácidas. Estas composiciones son más seguras de manipular y presentan menos problemas de evacuación que las composiciones fuertemente alcalinas o fuertemente ácidas.

Estas composiciones pueden utilizarse en soluciones a añadir a los alimentos a fin de inhibir el crecimiento de microorganismos responsables de las enfermedades vehiculadas por los alimentos y la pudrición durante la distribución y el almacenamiento.

Las composiciones contienen al menos un ácido orgánico y/o al menos una sal de un ácido orgánico, para acción antimicrobiana sinérgica en los alimentos.

Breve descripción de los dibujos

Fig. 1 muestra el efecto de los fosfatos sobre la supervivencia de *Escherichia coli* 0157:H7.

Fig. 2 muestra el efecto de los fosfatos sobre la supervivencia de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Fig. 3 muestra el efecto de los fosfatos sobre la supervivencia de *Salmonella typhimurium* ATCC 14020.

Fig. 4 muestra el efecto de los fosfatos sobre la supervivencia de *Listeria monocytogenes* Scott A.

Fig. 5 muestra el efecto de los fosfatos sobre la supervivencia de *Pseudomonas aeruginosa*.

Descripción detallada de la invención

Polifosfatos vítreos específicos son más eficaces contra ciertos microorganismos, especialmente aquéllos que son importantes para la seguridad de los alimentos. Si bien no se desea quedar ligado a ninguna teoría o explicación, se postula que estos polifosfatos inducen cambios en el transporte y la disponibilidad de nutrientes vitales para la célula, impidiendo con ello que tengan lugar procesos metabólicos normales. Esto conduce eventualmente a la muerte o lesión de la célula.

Composiciones que son inhibidoras para los microorganismos pueden oscilar desde 0,05% a 3%, preferiblemente desde 0,1% a 1%. El tratamiento del alimento puede implicar la adición de la composición al alimento de tal modo que la composición llegue a distribuirse en el interior del alimento. Alternativamente, la composición puede añadirse únicamente a la superficie del alimento, o puede emplearse una combinación de ambos tratamientos. Puede esperarse que se produzcan sinergias en los alimentos de músculo crudo o en cualquier alimento fresco que contenga fosfatasa con ciertas especias y sus extractos tales como ajo y cebollas por minimización de la hidrólisis del polifosfato vítreo. Los polifosfatos preservan el color y el contenido de vitaminas de las frutas y hortalizas, carne cruda y precocinada, aves, y mariscos. Los polifosfatos proporcionan también retención de humedad, protección del sabor, y estabilidad de la emulsión a los productos de carne y aves.

Combinaciones Fosfato-Ácido Orgánico y/o Sal

Existe una sinergia antimicrobiana entre los fosfatos y los ácidos orgánicos y/o sales de ácidos orgánicos, especialmente ácido láctico y/o sus sales, tal que las concentraciones efectivas totales requeridas para obtener eficacia microbiana en carne, aves y mariscos se reduce. El polifosfato tiene una longitud de cadena de al menos 2, preferiblemente 3 a 100, es soluble en agua, y es una sal de sodio, una sal de potasio, una sal mixta de sodio/potasio, una mezcla de sales de sodio y potasio, o una mezcla de sales de sodio, potasio, y sales mixtas sodio/potasio. Ácidos orgánicos adecuados son ácidos orgánicos comestibles, tales como ácido láctico, ácido cítrico, ácido acético, ácido málico, ácido fumárico, etc., y las sales de los mismos son asimismo sales comestibles. Se prefieren sales de sodio y potasio de ácidos orgánicos comestibles. Las sales de ácido láctico son más preferidas. Estos ácidos y/o sales se añaden generalmente de tal manera que la carne, las aves, o los mariscos resultantes comprenden 0,3% a 7% en peso de los mismos, preferiblemente 1% a 3%, y más preferiblemente 0,3 a 2,0% en peso de los mismos. Los fosfatos serán eficaces a concentraciones de 0,1% a 2% en peso, preferiblemente 0,5% a 1,0% en peso en el producto final de carne, ave de corral o mariscos. Dado que la cantidad total de fosfato y ácido y/o sal añadida se reduce, es menos probable que estos materiales causen cambios en las propiedades estéticas de los productos de carne, ave de corral, y mariscos.

La solución puede añadirse a cualquier carne, ave de corral, o marisco fresco, o crudo, curado o sin curar, cocinado o sin cocinar. Los productos curados contienen nitritos o nitratos añadidos, compuestos que se sabe son inhibidores de *Clostridium botulinum*. Por consiguiente, para los productos curados, puede esperarse que se requieran niveles inferiores de sal de ácido y fosfato para obtener eficacia antimicrobiana. Tanto para los productos frescos como para los cocinados, la combinación de ácido y/o sales de ácido y fosfato puede incorporarse al producto sea por inyección, volteo en tambor a vacío, tratamiento superficial o por cualquier combinación de estos métodos. Si se incorporan por inyección y/o volteo en tambor a vacío, es práctica común añadir la solución que contiene el fosfato y la sal de ácido

al producto crudo o fresco antes de cocinarlo. Los productos destinados a venderse crudos, sea frescos o previamente congelados, pueden inyectarse análogamente o voltearse a vacío en tambor con la combinación de ácido y/o sal del mismo y fosfato.

5 La solución se prepara típicamente disolviendo en primer lugar el fosfato en agua seguido por sal común (NaCl), nitritos o nitratos, ácido orgánico y/o sal del ácido orgánico comestible, y en caso deseado, edulcorantes tales como sólidos de jarabe de maíz, dextrosa y sacarosa, entre otros. Pueden añadirse también a la solución ahumado líquido, eritorbato, o ascorbato. El nivel de cada ingrediente en la solución estará determinado por la cantidad deseada de solución total e ingrediente a añadir al producto. Por ejemplo, si se desea que el producto contenga 10% de solución
10 añadida y 0,5% de fosfato y 1% de lactato de sodio, entonces la solución deberá contener 5% de fosfato y 10% de lactato de sodio.

La inyección de la solución de polifosfato en un producto alimenticio puede realizarse por cualquier número de dispositivos de inyección disponibles comercialmente, bien conocidos por los expertos en la técnica de la elaboración
15 de alimentos. Un dispositivo típico incluye un depósito presurizado que mantiene la solución conectada por un medio de conducción adecuado a un cabezal inyector controlado por válvula que incluye una o más agujas inyectoras huecas.

Los tratamientos superficiales incluyen inmersión, pulverización, ducha, recubrimiento o cualquier tratamiento que dé como resultado la presencia del fosfato o la conversión de fosfato y sal de ácido en la superficie del producto de carne, ave de corral, o mariscos. La concentración del fosfato y la sal de ácido vendrá determinada por los niveles
20 deseados en la superficie del producto acabado de tal modo que se obtenga la eficacia antimicrobiana. A fin de mejorar la eficacia antimicrobiana, es deseable mantener el fosfato y la sal de ácido en contacto íntimo con la superficie del alimento. El alimento puede encontrarse en estado crudo o precocinado. Esto puede realizarse por aumento de la viscosidad de la solución que contiene el fosfato y la sal de ácido de tal modo que la misma recubra y se adhiera
25 a la superficie del alimento. Alternativamente, el ácido orgánico y/o la sal del mismo y el fosfato pueden formar parte de un recubrimiento de gel a aplicar a la superficie del alimento. Ingredientes, específicamente hidrocoloides, almidones y proteínas que pueden utilizarse para aumentar la viscosidad de la solución o para formar una matriz de gel incluyen, pero sin carácter limitante, carragenano, goma de xantano, goma de algarrobilla, pectina, almidones modificados y naturales procedentes de diversas fuentes vegetales, gelatina, proteínas de soja, y proteínas basadas en
30 productos lácteos tales como caseína y lactosuero.

Composiciones de Limpieza (no forman parte de la invención)

Pueden utilizarse polifosfatos antimicrobianos en composiciones limpiadoras para alimentos, equipo de elaboración de alimentos, y superficies de contacto con alimentos. Estas composiciones pueden utilizarse para lavar la
35 superficie de, por ejemplo, frutas, hortalizas, canales de animales, equipo de corte de alimentos, mesas de preparación de alimentos, y material de envasado, entre otros. El lavado de la superficie de productos de frutas y hortalizas con composiciones limpiadoras que comprenden preparaciones diluidas de polifosfatos antimicrobianos contribuye a evitar el marchitamiento y ayuda a preservar su color y contenido de vitaminas. Análogamente, se minimizan los cambios
40 en el color, sabor, y textura de la superficie de las canales de animales. Los tratamientos superficiales pueden llevarse a cabo sobre productos tanto cocinados como crudos. Los productos crudos pueden prepararse como tales o utilizarse ulteriormente como materia prima para productos cocinados. Los productos cocinados con tratamiento superficial pueden empaquetarse para su distribución.

Las composiciones de limpieza comprenden una mezcla de polifosfatos de sodio y/o potasio y, opcionalmente, ortofosfatos de sodio y/o potasio, uno o más agentes tensioactivos, tales como un alquilbenceno-sulfonato lineal (LAS), una sal de ácido graso, un etoxilato de alcohol, etc. Los agentes tensioactivos se describen en *Industrial Applications of Surfactants*, D.R. Karsa, ed., The Royal Society of Chemistry, Londres, 1987, y libros de texto similares. Las composiciones de limpieza tienen un pH que va de 4 a 11, y son eficaces contra amplias clases de microorganismos con inclusión de bacterias gram-positivas y gram-negativas, especialmente las responsables de las enfermedades
50 vehiculadas por alimentos y la pudrición de los productos de carne y pescado.

Los polifosfatos tienen una longitud de cadena de 2 a 100. Preferiblemente, la composición contiene una mezcla de mono-, di- y/o tri-ortofosfato de sodio y/o potasio, un polifosfato lineal de cadena larga de sodio y/o potasio (longitud de cadena 6-50), y un agente tensioactivo o una combinación de agentes tensioactivos que son estables a lo largo de un intervalo de pH de 4 a 11. Las composiciones pueden comprender también ácido etileno-diamina-tetraacético (EDTA), y/o sus sales, y otros agentes quelantes, tales como ácido cítrico, ácido láctico, ácido ascórbico y otros ácidos policarboxílicos, y/o sus sales de sodio, potasio, y/o calcio. Las composiciones pueden comprender también concentraciones bajas de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 ppm de compuestos de tipo peróxido, tales
60 como ácido peracético y peróxido de hidrógeno.

Las composiciones pueden prepararse sea como una solución, un concentrado, o en forma seca para ser reconstituidas con agua en el punto de utilización. Deben usarse materiales de calidad alimentaria para preparar las composiciones de limpieza. La composición de limpieza puede utilizarse como una pulverización tópica o como un tratamiento de
65 inmersión.

Las composiciones de limpieza mantienen su eficacia antimicrobiana a un pH de 4 a 11. Los productos disponibles comercialmente requieren por lo general un pH de 10,5 a 12. Un pH más bajo reduce la gelatinosidad aparente de

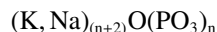
ES 2 277 844 T3

la composición cuando la composición se frota entre los dedos. Adicionalmente, debido al pH más bajo, es menos probable que la composición cause daño a la piel, los ojos, y los conductos respiratorios por contacto o inhalación. Las composiciones son eficaces aun cuando se preparen con agua dura.

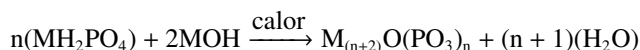
5 Polifosfatos Ricos en Potasio

Los polifosfatos en los cuales la relación de sodio a potasio es 0,5 a 3,8 pueden utilizarse además de, o en lugar de polifosfatos de sodio, especialmente en aplicaciones en las cuales es deseable reducir el contenido de sodio del alimento, tales como en alimentos para individuos que deben controlar su ingesta de sodio.

La preparación de soluciones de polifosfatos de sodio y potasio por intercambio iónico se describe en Iler, Patente U.S. 2557109, que se incorpora en esta memoria por referencia. Un polifosfato vítreo de la composición siguiente:



en la cual la relación de potasio a sodio es aproximadamente 0,5 a 3,8, preferiblemente 1,0 a 3,8, más preferiblemente 2,4 a 3,6; el valor medio de n es mayor que 9; y al menos 85% de las especies de fosfato comprenden más de 3 unidades fosfato, puede prepararse por la reacción siguiente:



Se prepara una mezcla de fosfato monopotásico, fosfato monosódico, e hidróxido de potasio y/o sodio. La relación potasio/sodio de la mezcla debería ser la misma relación que se desea en el producto de polifosfato vítreo. Preferiblemente, no está presente ion alguno aparte de sodio, potasio, los iones derivados del fosfato (es decir, $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} , PO_4^{3-}) y, opcionalmente, hidróxido. Si se desea, puede añadirse también agua a la mezcla.

La relación (K,Na)/P debería estar comprendida entre 1,0 y 1,6, y se ajusta para el valor deseado de n. cuanto más pequeño es el valor de esta relación, es decir, cuanto más próximo está este valor a 1,00, tanto mayor es el valor medio de n.

La mezcla se coloca en un recipiente que puede soportar las condiciones de calentamiento, tal como un recipiente de cerámica o alúmina, y se calienta en un aparato apropiado, tal como un horno de mufla. En escala industrial, el proceso puede llevarse a cabo en un horno de mayor tamaño, v.g., 8 pies (aproximadamente 2,4 m) de anchura por 15 pies (aproximadamente 4,6 m) de longitud, revestido interiormente con mezcla refractaria de circón en el fondo, diseñado para soportar una temperatura de la masa fundida de al menos 800°C.

La mixtura se calienta a aproximadamente 750°C para expulsar el agua y formar una masa fundida clara. El calentamiento a temperatura inferior a 600°C produce materiales con especies de fosfato de longitud de cadena insuficiente ($n > 3$). El calentamiento a 780°C produce un material que contiene insolubles excesivos o material difícilmente soluble que es inaceptable para estas aplicaciones. El calentamiento debería llevarse a cabo durante aproximadamente 0,75 a aproximadamente 1,5 horas. El calentamiento a la temperatura requerida puede llevarse a cabo en un solo paso o en varias etapas. Después del calentamiento, la mezcla de reacción que contiene el polifosfato se enfría, preferiblemente con rapidez, a fin de que no se produzca crecimiento cristalino alguno.

El producto es un vidrio mixto de polifosfato sodio-potasio de fórmula $(K,Na)_{(n+2)}O(PO_3)_n$, en la cual n y la relación de potasio de sodio son como se ha expuesto anteriormente. El vidrio de polifosfato contiene menos de 10% en peso de material insoluble en agua.

Aplicabilidad industrial

Los polifosfatos antimicrobianos tienen numerosas aplicaciones en elaboración de alimentos. Los mismos pueden utilizarse en composiciones de limpieza, sea para lavar frutas, hortalizas, y canales de animales o para limpiar e higienizar el equipo de elaboración de alimentos. Los polifosfatos antimicrobianos pueden añadirse directamente a los productos alimenticios de tal manera que los mismos lleguen a formar parte del producto acabado que se consume sin necesidad de lavado adicional.

Recientemente, el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos ha publicado nuevas disposiciones concernientes a nuevas normas de comportamiento para seguridad alimentaria de productos cocinados de carne y aves (9 CFR 381.150). Debido a la eficacia de los fosfatos y polifosfatos contra *Salmonella* y *Clostridia*, los fosfatos y polifosfatos pueden utilizarse eficazmente en el producto para cumplir la nueva disposición. Por la utilización de fosfatos, el potencial para crecimiento o supervivencia de *Salmonella*, *Clostridium botulinum* y *Clostridium perfringens*, se reducirá notablemente, en tanto que se mantendrán la retención de humedad, protección del sabor, y estabilidad de la emulsión proporcionada por los fosfatos para los productos cárnicos y de aves.

ES 2 277 844 T3

Las propiedades ventajosas de esta invención pueden observarse por referencia a los ejemplos siguientes que ilustran la invención, pero sin limitarla.

Ejemplos

Glosario

PAA Ácido peracético

Polifosfato 1 Polifosfato de sodio vítreo, soluble en agua compuesto de cadenas lineales de metafosfato (longitud media de cadena de 28-34)

Polifosfato 2 Polifosfato de sodio vítreo, soluble en agua compuesto por cadenas lineales de metafosfato (longitud media de cadena de 21)

TSP Fosfato trisódico

Ejemplos 1-5

Procedimiento Experimental: Se cultivaron bacterias individualmente en caldo de tripticasa-soja a 35°C. Para cada bacteria ensayada, se centrifugó un cultivo de 24 h, se lavó dos veces con peptona al 0,1% en agua, y se resuspendió en 10 ml de peptona al 0,1% en agua antes del ensayo.

Todos los tratamientos, con inclusión de los controles, contenían 0,03% en peso de alquilbenceno-sulfonato lineal. Se ajustó el pH por adición de hidróxido de sodio o ácido clorhídrico, en caso requerido. No se realizó ajuste alguno del pH para el tratamiento 9. Los tratamientos fueron como sigue:

Tratamiento 1. Control. pH = 11,8.

Tratamiento 2. 0,57% TSP. pH = 11,8.

Tratamiento 3. 0,57% Polifosfato 1. pH = 11,8.

Tratamiento 4. 0,57% Polifosfato 2. pH = 11,8.

Tratamiento 5. 0,57% Polifosfato 1. pH = 6.

Tratamiento 6. 0,57% Polifosfato 2. pH = 6.

Tratamiento 7. 0,57% Polifosfato 1 + 50 ppm PAA. pH = 11,8.

Tratamiento 8. 0,57% Polifosfato 1 + 50 ppm PAA. pH = 6.

Tratamiento 9. 50 ppm PAA. pH = 2,8.

Tratamiento 10. 0,57% TSP + 50 ppm PAA. pH = 11,8.

Todos los tratamientos que contenían fosfato se guardaron a 7°C antes de los ensayos. Para los tratamientos 1-6, una parte alícuota de 100 ml de la solución de tratamiento se retiró de la refrigeración, se puso en un matraz Erlenmeyer estéril, y se dejó equilibrar a la temperatura ambiente. Para los tratamientos 7-10, una parte alícuota de 150 ml de la solución de tratamiento se retiró de la refrigeración, se transfirió a una botella pasivada de color ámbar, y se dejó equilibrar a la temperatura ambiente. Los tapones de estas botellas se cubrieron con lámina delgada de aluminio. Dos minutos antes del ensayo, se añadieron a cada botella 0,14 ml de una solución stock que contenía 5,5% de PAA.

Se añadió a cada solución de tratamiento 0,1 ml del cultivo bacteriano apropiado. A intervalos de 0,5 min, 1,0 min, y 5,0 min después de la adición, se retiró 1 ml de la solución inoculada y se introdujo en una prueba en blanco de dilución de 9 ml. Para los tratamientos 1-6 se utilizó una prueba en blanco de dilución con fosfato de Butterfield. Para los tratamientos 7-10, se utilizó una prueba en blanco de dilución de fosfato de Butterfield que contenía 1 ml de tiosulfato de sodio 0,2 M. Las muestras se diluyeron y se extendieron con agar de recuento de placas (PCA) para incubación durante 48 h a 35°C. Todas las soluciones de inóculo se extendieron también sobre PCA para determinar los niveles iniciales de inóculo. Después de la incubación, se enumeraron las colonias en las placas.

Se ensayaron cinco especies de bacterias: *Escherichia coli* 0157:H7, una bacteria gram-negativa; *Staphylococcus aureus*, una bacteria gram-positiva; *Listeria monocytogenes*, una bacteria gram-positiva; *Salmonella typhimurium*, una bacteria gram-negativa; y *Pseudomonas aeruginosa*, una bacteria gram-negativa.

ES 2 277 844 T3

Los tratamientos se ensayaron también contra una mezcla de levaduras y mohos, pero ninguno de los tratamientos resultó eficaz contra levaduras o mohos dentro de la exposición de cinco minutos en la solución de tratamiento.

Tratamiento de Escherichia coli: *Escherichia coli* 0157:H7 es más tolerante a los ambientes ácidos que otros patógenos vehiculados por alimentos y, por esta razón, plantea un mayor riesgo. Ha llegado a conocerse que sobrevive en embutidos fermentados, mayonesa, y sidra de manzana. Se ha publicado que las pulverizaciones de ácidos orgánicos al 1,5% no son eficaces contra este organismo en la carne de vacuno. La dosis infectante parece ser muy baja, a saber, menos de 1 célula/g de alimento. El tratamiento de *E. coli* se muestra en la Tabla 1 y la Fig. 1.

TABLA 1

Tratamiento de Escherichia coli 0157:H7

Tratamiento	tiempo (min)	log impulsos	log reducción
Ninguno	0	6,09	
1	0,5	5,92	0,17
	1	6,04	0,05
	5	5,89	0,20
2	0,5	5,96	0,13
	1	5,96	0,13
	5	6,05	0,04
3	0,5	6,00	0,10
	1	5,99	0,10
	5	5,69	0,40
4	0,5	2,79	3,31
	1	2,32	3,77
	5	<1	>5,09
5	0,5	5,95	0,15
	1	5,85	0,24
	5	5,83	0,27
6	0,5	5,85	0,24
	1	5,88	0,21
	5	5,98	0,12
7	0,5	5,90	0,19
	1	5,76	0,33
	5	2,89	3,21
8	0,5	<1	>5,09
	1	<1	>5,09
	5	<1	>5,09,
9	0,5	<1	>5,09
	1	<1	>5,09
	5	<1	>5,09
10	0,5	5,05	1,04
	1	3,27	2,83
	5	1,60	4-49

ES 2 277 844 T3

Tratamiento de Staphylococcus aureus: *S. aureus* es un patógeno vehiculado por los alimentos que causa gastroenteritis como resultado de la ingestión de la enterotoxina. El tratamiento de *S. aureus* se muestra en la Tabla 2 y la Fig. 2.

TABLA 2

Tratamiento de Staphylococcus aureus ATCC 6538

Tratamiento	tiempo (min)	log impulsos	log reducción
Ninguno	0	4,94	--
1	0,5	5,46	0
	1	5,52	0
	5	5,57	0
2	0,5	4,53	0,41
	1	4,14	0,80
	5	3,83	1,11
3	0,5	4,61	0,33
	1	4,41	0,53
	5	3,88	1,07
4	0,5	4,10	0,85
	1	3,85	1,10
	5	3,18	1,76
5	0,5	4,30	0,64
	1	1,30	3,64
	5	<1	>3,94
6	0,5	2,46	2,48
	1	1,90	3,04
	5	1,00	3,94
7	0,5	1,30	3,64
	1	1,00	3,94
	5	<1	>3,94
8	0,5	<1	>3,94
	1	<1	>3,94
	5	<1	>3,94
9	0,5	<1	>3,94
	1	<1	>3,94
	5	<1	>3,94
10	0,5	<1	>3,94
	1	<1	>3,94
	5	<1	>3,94

ES 2 277 844 T3

Tratamiento de Salmonella typhimurium: *S. typhimurium* es una fuente común de enfermedad vehiculada por los alimentos. El tratamiento de *S. typhimurium* se muestra en la Tabla 3 y la Fig. 3.

TABLA 3

Tratamiento de Salmonella typhimurium ATCC 14020

Tratamiento	tiempo (min)	log impulsos	log reducción
Ninguno	0	6,33	—
1	0,5	>6,79	0
	1	>6,79	0
	5	>6,79	0
2	0,5	>6,79	0
	1	>6,79	0
	5	>6,79	0
3	0,5	>6,79	0
	1	>6,79	0
	5	>6,79	0
4	0,5	4,05	2,28
	1	3,62	2,71
	5	<1,00	>5,33
5	0,5	>6,79	0
	1	>6,79	0
	5	>6,79	0
6	0,5	>6,79	0
	1	>6,79	0
	5	>6,79	0
7	0,5	>6,79	0
	1	>6,79	0
	5	4,03	2,30
8	0,5	1	5,33
	1	<1	>5,33
	5	<1	>5,33
9	0,5	<1	>5,33
	1	<1	>5,33
	5	<1	>5,33
10	0,5	>5,79	0
	1	>5,79	0
	5	1,00	5,33

ES 2 277 844 T3

Tratamiento de Listeria monocytogenes: En la última década, la listeriosis, causada por *L. monocytogenes*, ha emergido como una enfermedad importante vehiculada por alimentos. Dado que la bacteria es resistente a pH bajo y concentraciones elevadas de cloruro de sodio y crece a las temperaturas de refrigeración, es muy difícil erradicarla de las plantas de elaboración de alimentos. El tratamiento de *L. monocytogenes* se muestra en la Tabla 4 y la Fig. 4.

TABLA 4

Tratamiento de Listeria monocytogenes Scott A

Tratamiento	tiempo (min)	log impulsos	log reducción
Ninguno	0	5,85	—
1	0,5	>6,79	0
	1	>6,79	0
	5	>6,79	0
2	0,5	5,59	0,26
	1	5,54	0,31
	5	4,86	0,99
3	0,5	4,90	0,95
	1	4,86	0,99
	5	2,60	3,25
4	0,5	1,70	4,15
	1	1,00	4,85
	5	<1	>4,85
5	0,5	5,40	0,45
	1	2,30	3,55
	5	2,00	3,85
6	0,5	5,54	0,31
	1	5,00	0,85
	5	2,30	3,55
7	0,5	<2	>3,85
	1	<1	>4,85
	5	<1	>4,85
8	0,5	<1	>4,85
	1	<1	>4,85
	5	<1	>4,85
9	0,5	<1	>4,85
	1	<1	>4,85
	5	<1	>4,85
10	0,5	<1	3,85
	1	<1	>4,85
	5	<1	>4,85

ES 2 277 844 T3

Tratamiento de Pseudomonas aeruginosa: Las *Pseudomonas* son bacterias comunes de la pudrición para los productos frescos de carne y aves, especialmente los expuestos a abuso de temperatura. El tratamiento de *P. aeruginosa*, una especie resistente a los antioxidantes fenólicos, se muestra en Tabla 5 y Fig. 5.

TABLA 5

Tratamiento de Pseudomonas aeruginosa

Tratamiento	tiempo (min)	log impulsos	log reducción
Ninguno	0	5,82	—
1	0,5	5,76	0
	1	5,70	0
	5	5,66	0
2	0,5	4,86	0,96
	1	4,58	1,24
	5	4,59	1,23
3	0,5	5,25	0,57
	1	5,27	0,55
	5	5,05	0,77
4	0,5	2,70	3,12
	1	2,60	3,22
	5	1,70	4,12
5	0,5	4,94	0,88
	1	4,67	1,15
	5	4,72	1,10
6	0,5	4,99	0,83
	1	5,10	0,72
	5	5,03	0,79
7	0,5	2,49	3,33
	1	2,00	3,82
	5	<1	>4,82
8	0,5	<1	>4,82
	1	<1	>4,82
	5	<1	>4,82
9	0,5	<1	>4,82
	1	<1	>4,82
	5	<1	>4,82
10	0,5	2,00	3,82
	1	1,00	4,82
	5	<1	>4,82

ES 2 277 844 T3

Sumario de resultados

Tratamiento 1. Control. pH = 11,8. Ineficaz contra cualquiera de las bacterias ensayadas.

5 Tratamiento 2. 0,57% TSP. pH 11,8. Ineficaz contra cualquiera de las bacterias ensayadas.

Tratamiento 3. 0,57% Polifosfato 1. pH = 11,8. Algo eficaz contra *Listeria monocytogenes*, con una reducción de 3,24 log al cabo de 5 min. Ineficaz contra cualquiera de las otras bacterias ensayadas.

10 Tratamiento 4. 0,57% de Polifosfato 2. pH 11,8. Eficaz contra *Listeria monocytogenes*, con una reducción de 4,8 log al cabo de 1 minuto. Eficaz también contra *Escherichia coli* 0157:H7 y *Salmonella typhimurium*, con reducciones >5 log a los 5 min. Algo eficaz contra *Pseudomonas aeruginosa*, con una reducción de 4,1 log a los 5 min.

15 Tratamiento 5. 0,57% Polifosfato 1. pH = 6. Eficaz contra *Staphylococcus aureus*, con una reducción > 3,9 log a los 5 min. Ineficaz contra cualquiera de las otras bacterias ensayadas.

Tratamiento 6. 0,57% Polifosfato 2. pH = 6. Eficaz contra *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* con reducciones de 4,0 y 3,5 log a los 5 min, respectivamente. Ineficaz contra cualquiera de las otras bacterias ensayadas.

20 Tratamiento 7. 0,57% Polifosfato 1 + 50 ppm de PAA. pH = 11,8. Eficaz contra *Listeria monocytogenes*, con reducciones > 3,8 log a los 0,5 min y reducción > 3,8 log a los 5 min. Eficaz contra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, con reducciones > 3,8 y > 4,8 log a los 5 min, respectivamente. Algo eficaz contra *Escherichia coli* 0157:H7 y *Salmonella typhimurium*, con reducciones log a los 5 min de 3,2 y 2,3, respectivamente.

25 Tratamiento 8. 0,57% Polifosfato 1 + 50 ppm PAA. pH = 6. Muy eficaz contra *Escherichia coli* 057:H7, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, y *Pseudomonas aeruginosa*, sin recuperarse célula alguna al cabo de 0,5 min. Muy eficaz también contra *Salmonella typhimurium*, con una reducción de 5,3 log al cabo de 0,5 min y > 5,33 al cabo de 1 min.

30 Tratamiento 9. 50 ppm PAA. pH = 2,8. Muy eficaz contra *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, y *Pseudomonas aeruginosa*, sin que se recupere célula alguna al cabo de 0,5 min.

35 Tratamiento 10. 0,57% TSP + 50 ppm PAA. pH = 11,8. Eficaz contra *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*, sin recuperación de célula alguna al los 0,5 min. Eficaz contra *Escherichia coli* 0157:H7 y *Salmonella typhimurium*, con reducciones log a los 5 min de 4,5 y 5,33, respectivamente.

Ejemplo 6

Este ejemplo muestra el efecto de los fosfatos sobre el crecimiento de microorganismos en carne cocinada.

40 Preparación de la Muestra: Se prepararon 7 lotes de jamón sin hueso de 40 libras (aproximadamente 18,2 kg) cortado y conformado que cumplían las especificaciones siguientes: humedad, 71,2-73,7%; proteína, 18,1-19,8%; grasa, 3,66-6,31%; sal, 2,0%; y fosfato 0,4%. Los jamones se fabricaron para ajustarse a las normas de identidad para un jamón cocido con un mínimo de 18,5% de proteína, exento de grasa (PFF). Las sales fosfato (0,4% en peso), indicadas en la Tabla 6 se añadieron a 6 de los jamones. Los jamones se bombearon por inyección hasta 10% en peso con una solución estándar de salmuera que contenía 4% de fosfato, 17,7% de sal (NaCl), 5,0% de sacarosa, 2,5% de polvo de Praga (6,25% de nitrito de sodio), y 0,55% de eritorbato de sodio. Después de la inyección, los jamones se voltearon en el tambor giratorio a vacío durante 45 min, se rellenaron en envolturas fibrosas de 6,5 pulgadas (aproximadamente 16,5 cm) de diámetro, y se cocieron luego a una temperatura interna de 71,1°C. Los jamones cocidos se enfriaron durante 8 h a 0°C, se envasaron a vacío, y se guardaron a 0°C durante 8 semanas.

55 Análisis Microbiológico: Se preparó un homogeneizado de la muestra mezclando 11 g de jamón con 99 ml de diluyente estéril de peptona al 0,1% y agitando durante 1 min en un "Stomacher". Se prepararon diluciones en serie por transferencia de partes alícuotas de 1,0 ml del diluyente de la muestra a 9 ml de peptona estéril al 0,1%. Las diluciones apropiadas se extendieron sobre agar de recuento de placas. Las placas se incubaron a 7°C durante 10 días.

60 Los resultados para los organismos psicrotrofos se muestran en la Tabla 6. Todos los tratamientos de fosfato contenían significativamente menos organismos psicotróficos en comparación con el control sin fosfato añadido. Los resultados para los diversos tratamientos de fosfato no se consideran significativamente diferentes.

65

TABLA 6

Crecimiento de Microorganismos Psicrotrofos en Jamón Cortado y Conformado después de 8 Semanas de Almacenamiento a 0°C

Fosfato añadido	log (unidades formadoras de colonias)/g
Ninguno	3,97
Tripolifosfato de sodio (pH aproximadamente 9,8)	1,58
Tripolifosfato de sodio (pH aproximadamente 9,8)	1,84
Mezcla de polifosfatos de sodio (pH aproximadamente 10)	1,83
Mezcla de polifosfatos de sodio (pH aproximadamente 9,5)	1,91
Mezcla de polifosfatos de sodio (pH aproximadamente 7)	2,15
Mezcla de polifosfatos de sodio (pH aproximadamente 7)	2,82

Evaluación sensorial: Se separó una loncha de $\frac{3}{4}$ " (aproximadamente 1,8 cm) y se puso sobre papel absorbente blanco para evaluación de la aceptabilidad del color. Se separaron dos lonchas de $\frac{1}{2}$ " (aproximadamente 1,2 cm) para evaluación sensorial. Las lonchas se pusieron en un molde y se prepararon muestras de 1,0 cm x 2,0 cm. Cada panelista recibió una muestra/tratamiento. Se sirvieron en cada sesión el control y tres tratamientos. Se sirvieron galletas saladas y zumo de manzana. Antes del ensayo, se realizaron dos sesiones de entrenamiento que incluyeron discusiones acerca de la jugosidad, intensidad del sabor de jamón, sabores residuales, y aceptabilidad del color.

Las características sensoriales y las propiedades objetivas de color de los jamones no se veían afectadas desfavorablemente por los tratamientos con fosfato. Adicionalmente, el fosfato añadido aumentaba los rendimientos de cocción y elaboración.

Ejemplo 7

Este ejemplo muestra el efecto de los fosfatos sobre el crecimiento de microorganismos en carne cocinada.

Preparación de la muestra: Se prepararon cinco lotes de 16 kg de jamón reestructurado. Jamones de cerdo enteros frescos se dejaron sin piel, se deshuesaron, se cortaron en músculos, y se recortó cada músculo para separar todo el tejido conectivo recortable y la grasa subcutánea e intramuscular. Los músculos se bombearon por inyección hasta 10% en peso con una solución estándar de salmuera que contenía la cantidad deseada de fosfato, 17,7% de sal (NaCl), 5,0% de sacarosa, 2,5% de polvo de Praga (6,25% de nitrógeno de sodio), y 0,55% de eritorbato de sodio. Se añadió fosfato a 4 de las 5 muestras para obtener el nivel deseado en el producto cocido. Los músculos bombeados se maceraron manualmente para facilitar la absorción de la salmuera, se voltearon en el tambor giratorio; y se rellenaron en envolturas fibrosas en trozos de 908,0 g. Los jamones se pesaron y se cocieron luego a una temperatura interna de 71,1°C. Los jamones cocidos se enfriaron durante 24 horas a 0°C, se envasaron a vacío, y se guardaron a 1,11°C durante 8 semanas.

Análisis Microbiológico: Se preparó un homogeneizado de la muestra por mezcla de 11 g de jamón con 99 ml de diluyente de peptona al 0,1% estéril y agitación durante 1 min en un "Stomacher". Se prepararon diluciones en serie por transferencia de partes alícuotas de 1,0 ml del diluyente de la muestra a 9 ml de peptona estéril al 0,1%. Las diluciones apropiadas se extendieron sobre placas Petrifilm 3M para recuento aerobio de placas y organismos psicrotrofos, o agar APT para los organismos de ácido láctico. Las placas se incubaron a 35°C durante 48 h, 20°C durante 5 días, o 30°C durante 48 h para recuento aerobio de placas, organismos psicrotrofos, y organismos de ácido láctico, respectivamente. Se analizaron muestras duplicadas para cada tratamiento. Los resultados se muestran en las Tablas 7, 8, y 9.

ES 2 277 844 T3

TABLA 7

Crecimiento de Microorganismos Psicrotrofos en Jamón Troceado y Conformado Después de 8 Semanas de Almacenamiento a 1,11°C

Fosfato añadido	log (unidades formadoras de colonias)/g
Ninguno	7,79
0,4% Tripolifosfato de sodio	7,8
1,0% Tripolifosfato de sodio	5,91
1,0% Pirofosfato ácido de sodio	5,28
1,0% Hexametrafosfato de sodio	4,62

TABLA 8

Recuento Aerobio de Placas en Jamón Troceado y Conformado Después de 8 Semanas de Almacenamiento a 1,11°C

Fosfato añadido	log (unidades formadoras de colonias)/g
Ninguno	6,03
0,4% Tripolifosfato de sodio	6,69
1,0% de Tripolifosfato de sodio	5,67
1,0% Pirofosfato ácido de sodio	4,49
1,0% Hexametrafosfato de sodio	4,55

TABLA 9

Crecimiento de Organismos de Ácido Láctico en Jamón Troceado y Conformado Después de 8 Semanas de Almacenamiento a 1,11°C

Fosfato añadido	log (unidades formadoras de colonias)/g
Ninguno	7,42
0,4% Tripolifosfato de sodio	6,62
1,0% Tripolifosfato de sodio	6,70
1,0% Pirofosfato ácido de sodio	5,38
1,0% Hexametrafosfato de sodio	6,24

Una vez descrita la invención, se reivindica a continuación lo siguiente y sus equivalentes.

REIVINDICACIONES

1. Un método para prevenir el crecimiento de bacterias en productos de carne, aves, y mariscos, comprendiendo el método:

añadir al producto de carne, de aves o de mariscos una solución acuosa que comprende un polifosfato y un ácido orgánico y/o una sal de un ácido orgánico;

en donde:

después de la adición de la solución acuosa, el producto resultante de carne, mariscos, o aves contiene 0,3% a 7% en peso de ácido orgánico y/o sal del mismo y 0,01% a 2% en peso de polifosfato;

el polifosfato es un polifosfato de sodio, un polifosfato de potasio, un polifosfato mixto de sodio/potasio, o una mezcla de los mismos;

el polifosfato es soluble en agua y tiene una longitud de cadena de al menos dos; y

el ácido orgánico es un ácido orgánico comestible.

2. El método de la reivindicación 1 en el cual, después de adición de la solución acuosa, el producto de carne, mariscos, o aves contiene 0,3% a 2,0% en peso de ácido orgánico y/o sal del ácido orgánico y 0,05% a 1,0% de polifosfato.

3. El método de la reivindicación 2, en el cual el ácido orgánico es ácido láctico.

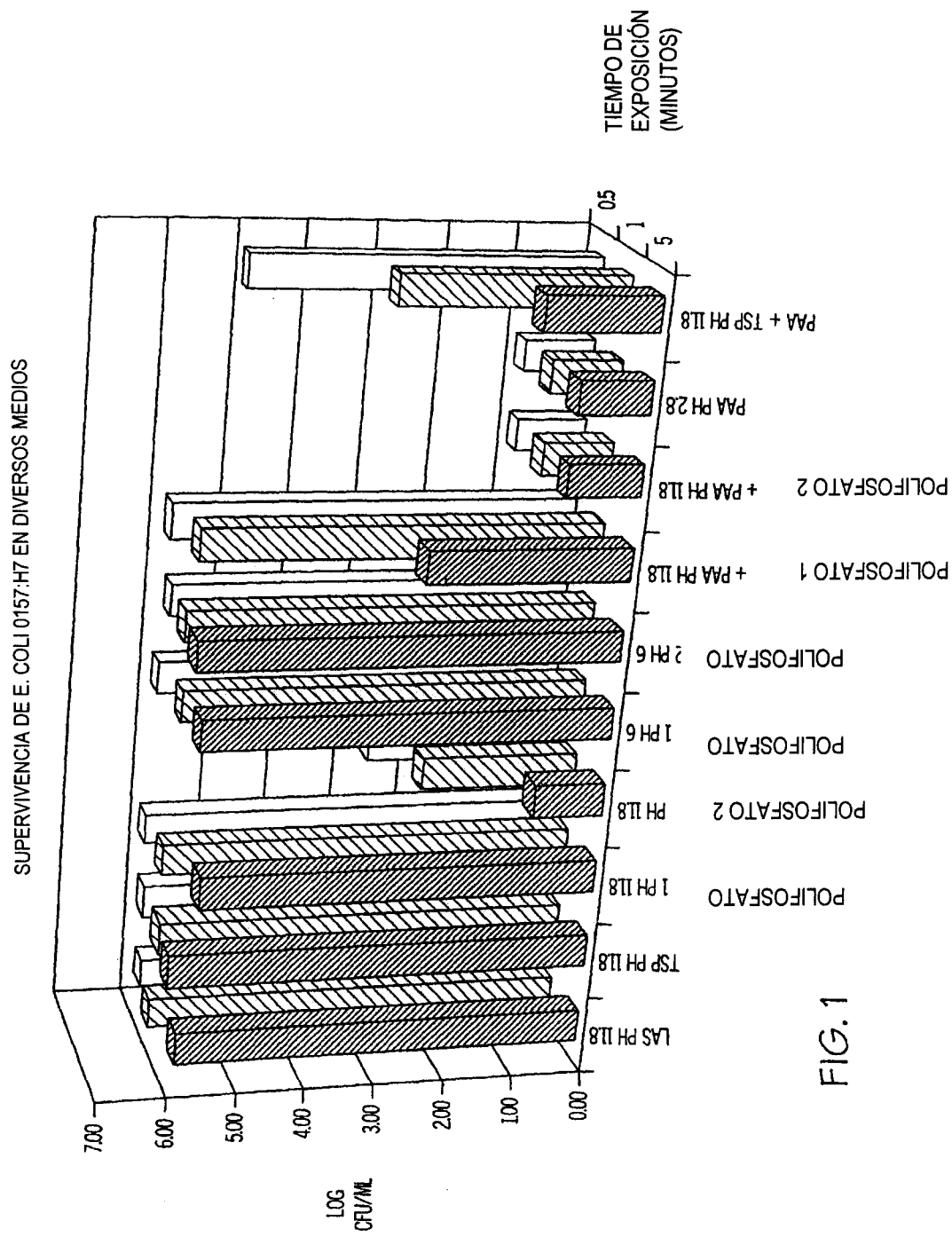


FIG.1

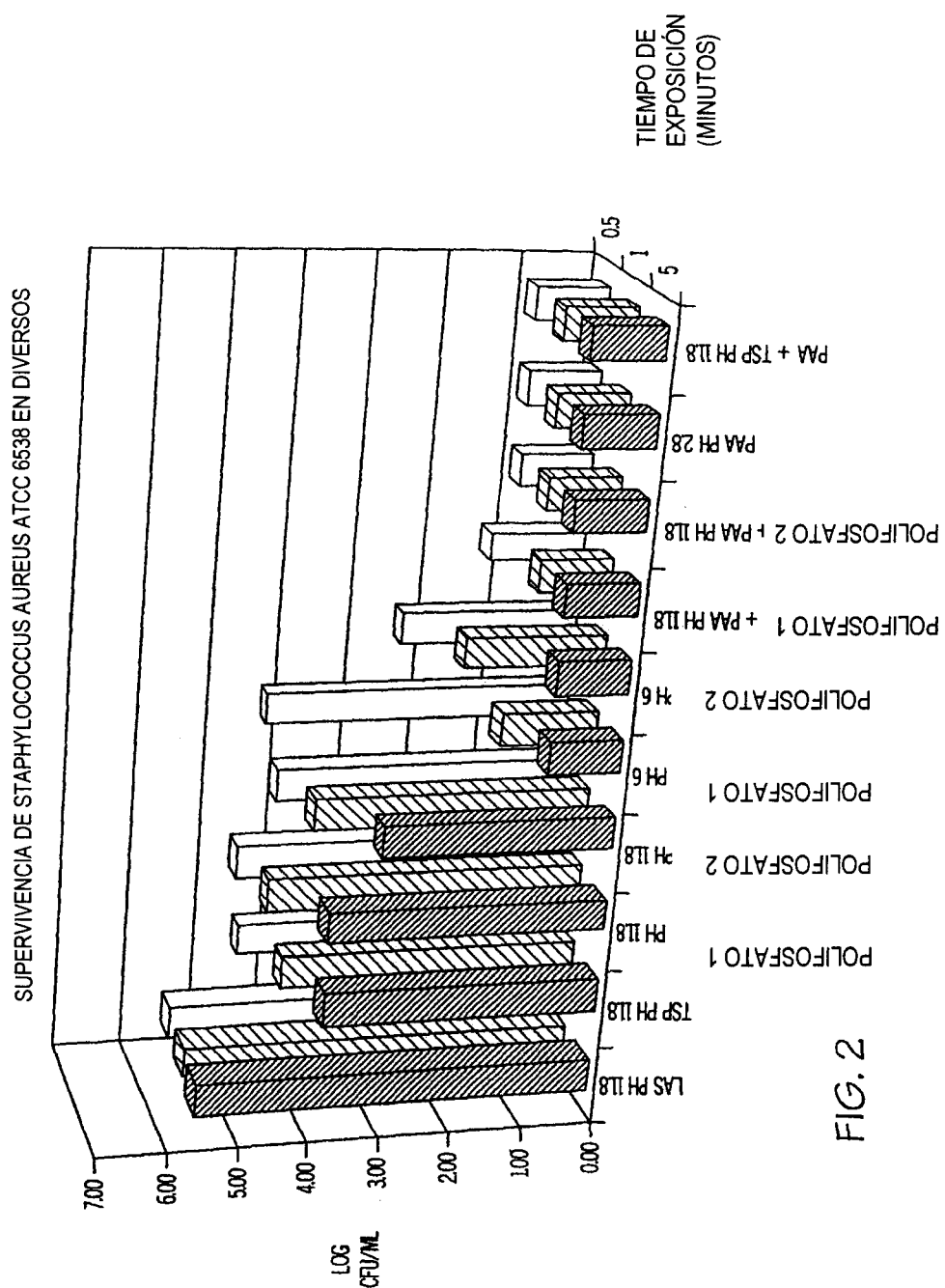


FIG. 2

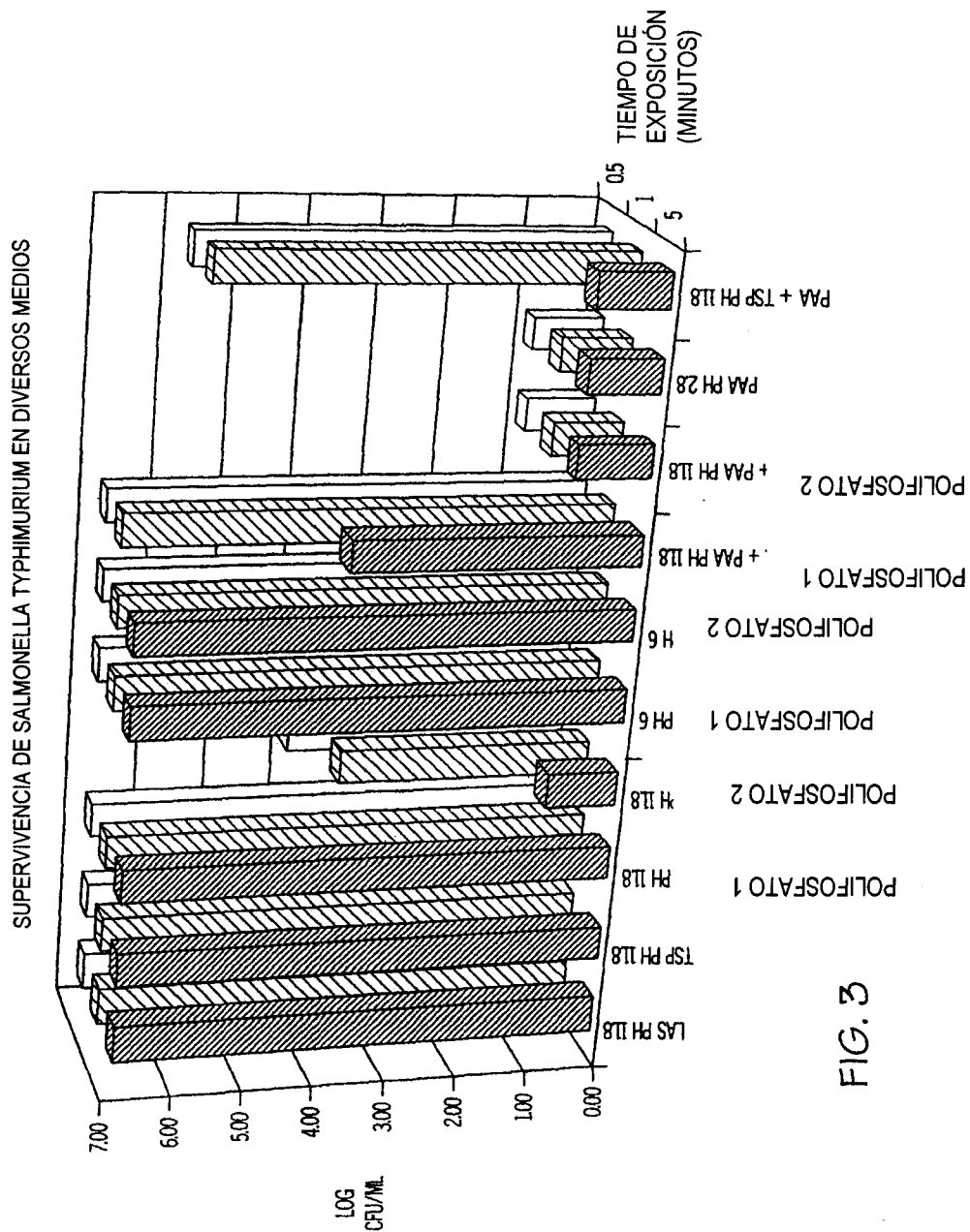


FIG. 3

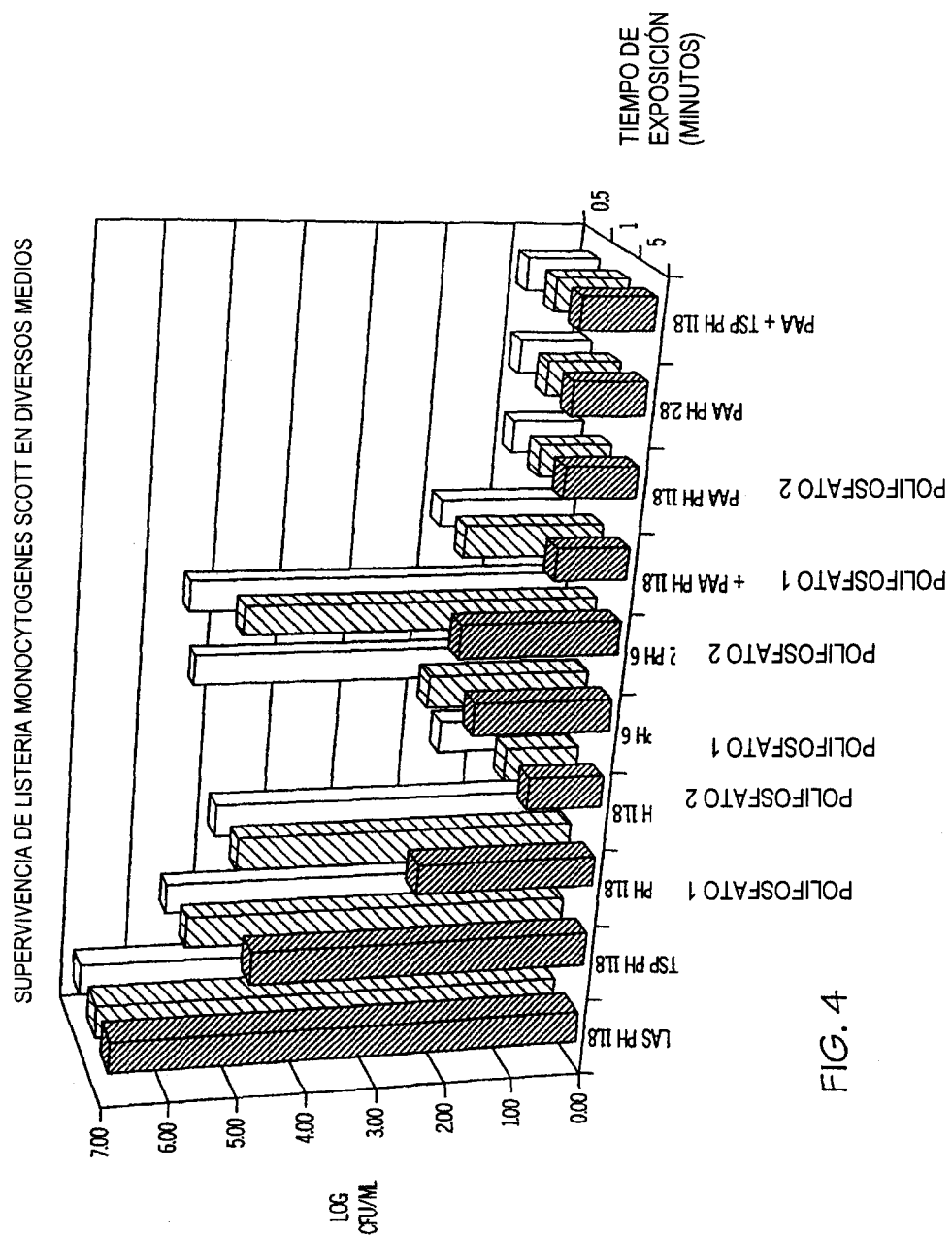


FIG. 4

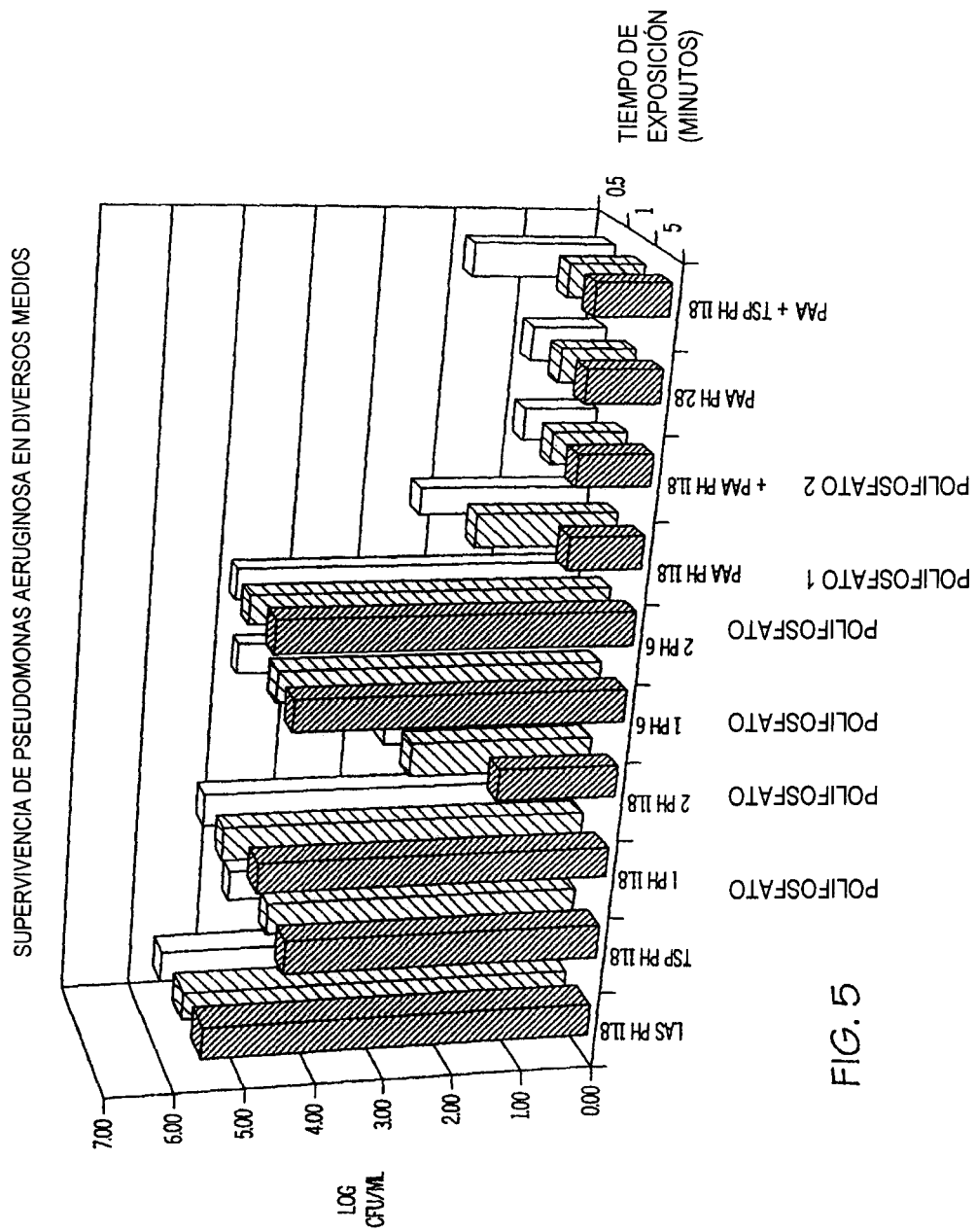


FIG. 5