

EFFECT OF SOME PRESERVATIVES ON SHELF-LIFE OF CORN TORTILLAS OBTAINED FROM EXTRUDED MASA

EFFECTO DE ALGUNOS CONSERVADORES SOBRE LA VIDA ÚTIL DE TORTILLAS DE MAÍZ OBTENIDAS A PARTIR DE MASA EXTRUDIDA

Héctor E. Martínez-Flores¹, Marcela Gaytán-Martínez², Juan de D. Figueroa-Cárdenas²,
Fernando Martínez-Bustos², María de la L. Reyes-Vega³ y Arturo Rodríguez-Vidal³

¹Escuela de Químico Farmacobiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Tzintzuntzan 173. Col. Matamoros. Morelia, Michoacán, México. 58240. Fax: (443) 314-2152. (hedu65@hotmail.com). ²Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN. Unidad Querétaro. Libramiento Norponiente 2000. Fracc. Real de Juriquilla. 76230. Querétaro, Querétaro. México. ³Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila. Blvd. Venustiano Carranza. 25280. Saltillo, Coahuila, México.

ABSTRACT

The effect of adding different preservatives on the shelf life of corn tortillas prepared from extruded masa was evaluated. The following preservatives were evaluated: Na-propionate; K-sorbate; Ca-hydroxide; and propyl-paraben. Blends of these preservatives in different concentrations were also evaluated. The tortillas treated with preservatives were studied at room temperature (22±1 °C) and under refrigeration (4 °C). The mesophylic bacterial count (MBC), and mold and yeast counts (MYC) were taken. The tortillas treated with Ca-hydroxide and K-sorbate had a shelf life of 3 d when stored at 22 °C and eight d when stored at 4 °C. The minimum growth of MBC and MYC occurred in tortillas containing a blend of preservatives. Tortillas treated with 0.30% Na-propionate, 0.125% K-sorbate and 0.1% propyl-paraben, and those containing 0.30% Na-propionate, 0.125% K-sorbate and 0.1% fumaric acid, had a shelf life of 6 d when stored at 22 °C and up to 16 d when stored at 4 °C. The combination of two or more preservatives with refrigeration (4 °C) extended tortilla shelf life.

Key words: Corn tortillas, preservatives, shelf-life.

INTRODUCTION

Corn tortilla is the main ethnic food in México, and its *per cápita* consumption is approximately 120 kg (Paredes-López and Saharópulos, 1983). For this reason, tortilla industry is one of the most important in the country (Wall Street Journal, 1993). The tortilla industry has annual sales of four billion dollars (Iturbe *et al.*, 1996). Tortillas are normally consumed the same day they are produced, due to the fact that their high moisture content of 45-50% (Islam *et al.*, 1984; Johnson *et al.*, 1980) and their water activity of 0.94-0.98 make the product very susceptible to microbial

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la adición de diferentes conservadores sobre la vida útil de tortillas de maíz preparadas con masa fresca extrudida. Se probaron los siguientes conservadores: propionato-Na; sorbato-K; hidróxido-Ca; y propil-parabeno. También se evaluaron distintas mezclas de éstos en las que se utilizaron diferentes niveles de concentración. Las tortillas tratadas con conservadores fueron almacenadas a temperatura ambiente (22±1 °C) y de refrigeración (4 °C). Se registró el conteo de bacterias mesofílicas aerobias (BMA), así como el de mohos y levaduras (ML). Las tortillas tratadas con hidróxido-Ca y sorbato-K tuvieron una vida de anaquel de 3 d cuando se almacenaron a 22 °C, y de ocho d a 4 °C. El menor crecimiento de BMA y de ML ocurrió en las tortillas que contenían una mezcla de conservadores. Las tratadas con 0.30% de propionato-Na, 0.125% de sorbato-K y 0.1% de propil-parabeno, así como aquellas con 0.30% de propionato-Na, 0.125 de sorbato-K y 0.1% de ácido fumárico, tuvieron una vida útil de 6 d cuando se almacenaron a 22 °C, y de hasta 16 d a 4 °C. La combinación de dos o más conservadores con refrigeración (4 °C) prolongó la vida útil de las tortillas.

Palabras clave: Tortillas de maíz, conservadores, vida de anaquel.

INTRODUCCIÓN

En México, la tortilla de maíz es el principal alimento ancestral, y su consumo *per cápita* es de aproximadamente 120 kg (Paredes-López y Saharópulos, 1983). Por ello, la industria de la tortilla es una de las más importantes en el país (Wall Street Journal, 1993). Las ventas anuales de la industria de la tortilla son de cuatro billones de dólares (Iturbe *et al.*, 1996). Generalmente las tortillas son consumidas el mismo día su producción, debido a que su alto contenido de humedad, de 45 a 50% (Islam *et al.*, 1984; Johnson *et al.*, 1980) y su actividad acuosa (0.94 a 0.98) hacen que el producto sea susceptible a daños

Recibido: Enero, 2003. Aprobado: Marzo, 2004.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 38: 285-292. 2004.

spoilage. After 48 hours storage at room temperature molds and yeasts become visible.

The best way to preserve tortillas is refrigerating them. However, due to the fact that consumers prefer fresh tortillas, refrigeration has not been a successful practice (Téllez-Girón *et al.*, 1988). For this reason, tortilla manufacturers require alternative methods to prevent bacterial damage. The most economical mean to increase tortilla shelf life is to keep them in an alkaline pH (>9). Nevertheless, this causes undesirable properties in the product, such as an intense yellow color and a bitter flavor, characteristic of lime (Téllez-Girón *et al.*, 1988).

The first studies of the incorporation of preservatives in order to extend the shelf-life of corn tortillas were carried out by Rubio (1972a, 1972b, 1973, 1974a, 1974b, 1975), using a great variety of substances: epichlorohydrin, polycarboxylic acid and their anhydrides, hydrophilic inorganic gels, esters of parahidroxibenzoic acids and sorbic acid and its salts, and acetic and propionic acids. However, the formulas used exceeded the limits allowed by the U.S. Food and Drug Administration (FDA). Luke and Andres (1981) applied a solution of potassium sorbate to the surface of baked corn tortillas, thus extending shelf-life to 45 d when refrigerated. Islam *et al.* (1984) found that the longest shelf-life was obtained by adding 0.4% calcium propionate (4.7 days) and 0.4% dimethyl fumarate (10.6 days). However, dimethyl fumarate is not approved as a food additive by the FDA. Téllez-Girón *et al.* (1988) reported the use of several preservatives applied individually, or in combined form, and also the incorporation of fumaric acid in some mixtures, in order to acidify corn tortillas, to obtain a double preservation effect. In that study, it was reported that the best results were obtained with either a mixture of acidified preservatives or a mixture of sorbate potassium and calcium propionate. Limited information is available on the use of preservatives allowed by the FDA to extend the shelf-life of corn tortillas. The purpose of this work was to evaluate the effect of adding several preservatives, applied in different concentrations (allowed by the FDA) and temperature conditions, on the shelf life of corn tortillas made from extruded masa.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Food grade sodium propionate, potassium sorbate, calcium hydroxide, propyl-paraben and fumaric acid were supplied by Química Hércules, S.A de C.V. (México). For the assay of the mesophilic bacterial count (MBC) trypticase soy agar was used. For mold and yeast counts (MYC) potato dextrose agar was used.

por microbios. Después de un almacenamiento de 48 h a temperatura ambiente, se observa la aparición de mohos y levaduras.

La refrigeración es la mejor manera de conservar las tortillas. Sin embargo, ésta no ha sido una práctica exitosa debido a que los consumidores las prefieren frescas (Téllez-Girón *et al.*, 1988). Por ello, los fabricantes requieren métodos alternativos a fin de prevenir daños bacteriológicos. El medio más económico para incrementar la vida útil de la tortilla es su mantenimiento en un pH alcalino (>9). No obstante, ello genera propiedades indeseables en el producto, tales como un color amarillo intenso y un sabor amargo, característico de la cal (Téllez-Girón *et al.*, 1988).

Los primeros estudios sobre la incorporación de conservadores para aumentar la vida útil de las tortillas de maíz fueron desarrollados por Rubio (1972a, 1972b, 1973, 1974a, 1974b, 1975), quien utilizó una gran variedad de sustancias: epichlorohidrina, ácido policarboxílico y sus anhídridos, geles hidrofílicos inorgánicos, ésteres de ácidos parahidroxibenzoicos y ácidos ascórbicos y sus sales, y ácidos acético y propiónico. Sin embargo, las fórmulas utilizadas excedieron los límites autorizados por la U.S. Food and Drug Administration (FDA). Luke y Andres (1981) aplicaron una solución de sorbato de potasio a la superficie de tortillas cocidas de maíz, extendiendo su vida útil a 45 días en refrigeración. Islam *et al.*, (1984) observaron que la mayor vida útil se obtenía al agregar 0.4% de propionato de calcio (4.7 días) y 0.4% de dimetil fumarato (10.6 días). No obstante, el dimetil fumarato no está autorizado por la FDA como aditivo alimenticio. Téllez-Girón *et al.* (1988) reportaron el uso de diversos conservadores aplicados individualmente, o de manera combinada, y también la incorporación de ácido fumárico en algunas mezclas, para acidificar las tortillas de maíz, así como para lograr un efecto doble de conservación. En ese estudio se reportó que los mejores resultados se obtuvieron con una mezcla de conservadores acidificados o con una mezcla de sorbato de potasio y propionato de calcio. Existe poca información con respecto al uso de conservadores autorizados por la FDA para extender la vida útil de las tortillas de maíz. El propósito de este trabajo fue evaluar el efecto de la adición de diversos conservadores, utilizando diferentes niveles de concentración (autorizados por la FDA) y condiciones de temperatura, en la vida útil de tortillas de maíz obtenidas a partir de masa extrudida.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El propionato de sodio de grado alimenticio, el sorbato de potasio, el hidróxido de calcio, el propil parabeno y el ácido fumárico fueron

Masas and tortillas

Ten batches of tortillas were prepared using whole corn flour. To obtain the whole corn flour, a dent corn called Toluca was milled in a laboratory knife mill (Pulvex model 200; Maquinaria para Moliendas y Mezclas, México, D. F). Then, whole corn flour was blended with calcium hydroxide (0.25% w/w) and the different preservatives added. The mixture was homogeneously mixed. After this, water (60% w/w) was added and the mixture was blended to obtain masa. This mixture was processed in a low degree shear extruder (Martínez-Bustos *et al.*, 1996) at a barrel temperature of 80 °C and screw speed of 35 rpm, to produce fresh cooked masa. The masa was shaped into disks of 15 cm of diameter and 2 mm thick using a manual roller machine (Casa González, Monterrey, NL, México), and cooked on a hot griddle at 280 °C for 30 sec on the first side, 40 sec on the second, and 20 sec on the first side again. The tortillas were cooled at room temperature until they reached 30 °C, and groups of five tortillas were packaged in polyethylene bags and sealed. Each treatment was stored at room temperature (22±1 °C) during six d and at 4 °C for 16 d.

The preservative tested in this assay were: 1) control (no preservatives added); 2) 30% Na-propionate; 3) 0.35% Ca-hydroxide; 4) 0.125% K-sorbate; 5) 0.10% propyl-paraben; 6) 0.30% Na-propionate and 0.10% propyl-paraben; 7) 0.30% Na-propionate, 0.10% propyl-paraben and 0.10% fumaric acid; 8) 0.15% Na-propionate, 0.05% propyl-paraben and 0.10% fumaric acid; 9) 0.30% Na-propionate, 0.15% propyl-paraben and 0.125% K-sorbate; 10) 0.30% Na-propionate, 0.10% fumaric acid and 0.125% K-sorbate. K-sorbate included in treatments 3, 9 and 10 was added by spraying an aqueous solution of 1.25% K-sorbate on the surface of each side of the tortillas. The shelf-life of the tortillas was calculated following the procedure of Islam *et al.* (1984), in which the number of days the tortillas maintain a mold-free appearance is taken into account.

Methods

The moisture content and pH values were determined using AOAC methods 14.004 and 14.022 respectively. For the microbiological assays methods 966.23C (MBC test) and 940.37E (MYC test) were used (AOAC, 1990).

Statistical analysis

The pH and the moisture of the treatments were evaluated in triplicate. The MBC and MYC were evaluated in duplicate. Tukey's test was applied to determine statistical differences ($p \leq 0.05$) using the Statistical Analysis System software (SAS, 1985).

RESULTS AND DISCUSSION

pH and moisture content

The pH values of tortillas stored at room temperature ranged from 6.68 in product 10 to 8.45 in product 3 (Table 1). The highest pH value was obtained in the product 3

proporcionados por Química Hércules, S.A. de C.V. (México). Para el ensayo del conteo de bacterias mesofílicas aerobias (BMA) se utilizó caldo de cultivo soya tripticaseína. Para los conteos de mohos y levaduras (ML) se utilizó agar de dextrosa y papa.

Masas y tortillas

Se prepararon diez lotes de tortillas con harina entera de maíz. Para la obtención de la harina entera de maíz se molió un maíz dentado llamado Toluca en un molino de laboratorio (Modelo Pulvex 200; Maquinaria para Moliendas y Mezclas, México, D. F). Posteriormente, la harina entera de maíz se mezcló con hidróxido de calcio (0.25% w/w) y se agregaron los diferentes conservadores, obteniéndose una mezcla homogénea. Después de esto, se agregó el agua (60% w/w) y se mezcló hasta obtener la masa. Esta mezcla se procesó en un extrusor de esquila de grado bajo (Martínez-Bustos *et al.*, 1996) a una temperatura de barril de 80 °C y a una velocidad de rotación de 35 rpm, para producir masa cocida fresca. Se hicieron discos de masa de 15 cm de diámetro y 2 mm de grosor con una máquina manual (Casa González, Monterrey, NL, México), que fueron cocinados en una plancha caliente a 280 °C durante 30 segundos por el primer lado, 40 segundos por el segundo, y 20 por el primer lado nuevamente. Las tortillas se enfriaron a temperatura ambiente hasta alcanzar los 30 °C, y se empacaron en grupos de cinco en bolsas de polietileno que fueron selladas. Cada tratamiento se almacenó a temperatura ambiente (22±1 °C) durante 6 d y a 4 °C durante 16 d.

Los conservadores evaluados en este ensayo fueron: 1) Testigo (sin conservadores añadidos); 2) 30% propionato-Na; 3) 0.35% hidróxido de Ca; 4) 0.125% sorbato-K; 5) 0.10% propil-parabeno; 6) 0.30% propionato-Na y 0.10% propil-parabeno; 7) 0.30% propionato-Na, 0.10% propil-parabeno y 0.10% ácido fumárico; 8) 0.15% propionato-Na, 0.10% propil-parabeno y 0.10% ácido fumárico; 9) 0.30% propionato-Na, 0.15% propil-parabeno y 0.125% sorbato-K; 10) 0.30% propionato-Na, 0.10% ácido fumárico y 0.125% sorbato-K. El sorbato-K de los tratamientos 3, 9 y 10 fue añadido rociando una solución acuosa de 1.25% de sorbato-K en la superficie de cada lado de las tortillas. La vida útil de las tortillas se calculó de acuerdo con el procedimiento utilizado por Islam *et al.* (1984), en el que la referencia es el número de días que las tortillas se mantienen sin mostrar rastros aparentes de moho.

Métodos

El contenido de humedad y los valores de pH se determinaron usando los métodos 14.004 y 14.002, de la AOAC, respectivamente. Para los ensayos microbiológicos se usaron los métodos 966.23C (prueba de BMA) y 940.37E (prueba de MC). AOAC, 1984.

Análisis estadístico

El pH y la humedad de los tratamientos se evaluaron por triplicado. BMA y ML se evaluaron dos veces. Se aplicó la prueba de Tukey para determinar las diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) con el paquete Statistical Analysis System (SAS, 1985).

Table 1. Moisture content and pH values of corn tortillas treated with preservatives.**Cuadro 1. Contenido de humedad y valores de pH de las tortillas de maíz tratadas con conservadores.**

Products	Moisture (%)	PH
1	35.41bc	6.98d
2	35.28bcd	7.14b
3	34.77cd	8.45a
4	33.42e	6.84f
5	35.34bc	6.94de
6	35.75ab	7.07c
7	34.62d	6.90e
8	36.35a	7.10bc
9	30.19f	6.95d
10	33.50e	6.68g

Means with different letters within a column indicate significant differences (Tukey, $p \leq 0.05$) ♦ Medias con letras diferentes en una columna indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$).

1) control, with no preservatives added; 2) 30% Na-propionate; 3) 0.125% K-sorbate; 4) 0.35% Ca-hydroxide; 5) 0.10% propyl-paraben; 6) 0.30% Na-propionate and 0.10% propyl-paraben; 7) 0.30% Na-propionate, 0.10% propyl-paraben and 0.10% fumaric acid; 8) 0.15% Na-propionate, 0.05% propyl-paraben and 0.10% fumaric acid; 9) 0.30% Na-propionate, 0.15% propyl-paraben and 0.125% K-sorbate; 10) 0.30% Na-propionate, 0.10% fumaric acid and 0.125% K-sorbate.

(8.45), and was statistically different ($p \leq 0.05$) to the others treatments. This was due to the hydroxyl groups present in the 0.35% Ca-hydroxide preservative added to the tortillas. Lower pH values for the tortillas were found in treatments 10 (6.68), 3 (6.84) and 7 (7.90). Treatments 10 and 7 contained 0.10% fumaric acid in the blends. The moisture content of tortillas ranged from 30.19% to 36.35%, a value similar to that observed by Téllez-Girón *et al.* (1988), but different from those obtained by Islam *et al.* (1984) that found a range of moisture contents of 47.6 to 50.6%. Moisture content in tortillas could be one of the factors that favour the growth of microorganisms. Tortillas with 1.25% K-sorbate (treatments 3, 9 and 10), had the lower moisture contents (33.42, 30.19 and 33.50%). This probably could be associated to the form that K-sorbate was added, that is, by spraying the solution to the surface of each tortilla. It is likely, then, that some moisture was lost in the air.

MBC and MYC in tortillas stored at 22 °C±1

Table 2 shows that three hours after the tortillas had been baked, a high initial development of MBC was observed in the control treatment (product 1) with a count value of $5.40 \log_{10} \text{g}^{-1}$. The initial value of MBC found in this study is similar to that obtained by Higuera and Nieblas (1995), who found an initial value of MBC of $5.10 \log_{10} \text{g}^{-1}$ in corn tortillas made without preservatives, analyzed immediately after baking then. Téllez-Girón *et al.* (1988) observed a very high initial

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

pH y contenido de humedad

Los valores del pH de las tortillas almacenadas a temperatura ambiente variaron desde 6.68 en el producto 10 hasta 8.45 en el producto 3 (Cuadro 1). El valor más alto de pH se obtuvo en el producto 3 (8.45%), y fue estadísticamente diferente ($p \leq 0.05$) de los otros tratamientos. Ello se debió a los grupos hidroxilos presentes en el conservador de hidróxido-Ca a 0.35% que fue añadido a las tortillas. Los valores de pH más bajos de las tortillas fueron los de los tratamientos 10 (6.68%), 3 (6.84%) y 7 (7.90). Los tratamientos 10 y 7 tuvieron 0.10% de ácido fumárico en las mezclas. El contenido de humedad de las tortillas varió de 30.19% a 36.35%, valor similar al observado por Téllez-Girón *et al.* (1988), pero diferentes de los obtenidos por Islam *et al.* (1984), quienes encontraron una variación de contenidos de humedad de 47.6 a 50.6%. El contenido de humedad en las tortillas podría ser uno de los factores que favorecen el crecimiento de microorganismos. Las tortillas con 1.25% de sorbato-K (tratamientos 3, 9 y 10) registraron los contenidos de humedad más bajos (33.42, 30.19 y 33.50%). Esto podría estar asociado a la manera en la que el sorbato-K fue añadido, es decir, rociando la solución en la superficie de cada tortilla. Esto podría haber ocasionado que una cantidad de humedad se haya perdido en el aire.

BMA y ML en tortillas almacenadas a 22 °C±1

El Cuadro 2 muestra que, tres horas después de la cocción de las tortillas, se observó un crecimiento inicial elevado de BMA en el tratamiento testigo (producto 1) con un valor de $5.40 \log_{10} \text{g}^{-1}$. El valor inicial de BMA encontrado en este estudio es similar al obtenido por Higuera y Nieblas (1995), quienes encontraron un valor inicial de BMA de $5.10 \log_{10} \text{g}^{-1}$ en tortillas de maíz fabricadas sin conservadores, analizadas inmediatamente después de haber sido cocinadas. Téllez-Girón *et al.* (1988) observaron un crecimiento inicial muy elevado de bacterias aeróbicas ($8.0 \log_{10} \text{g}^{-1}$) en tortillas de maíz preparadas sin conservadores, evaluadas el primer día de almacenamiento a 25 °C. La Norma mexicana establece que el valor máximo de BMA permitido en tortillas de maíz es $3.30 \log_{10} \text{g}^{-1}$ (PROY-NOM-187-SSA1-2000, Diario Oficial de México, 2000).

El BMA fue de cero en el día 0 en los productos 7, 9 y 10. En el tercer día de almacenamiento a 22 ± 1 °C, los tratamientos 7 y 9 no mostraron crecimiento de BMA. La ausencia de BMA en éstos podría deberse al efecto combinado de los conservadores. Sin embargo, en el día seis, estos tratamientos (7, 9 y 10) habían incrementado sus conteos de BMA a niveles prohibidos en México. La

Table 2. Effect of preservatives on BMC and MYC of corn tortillas stored at 22±1 °C.
Cuadro 2. Efecto de los conservadores en BMA y ML de las tortillas de maíz almacenadas a 22±1 °C.

Products	BMC ($\log_{10} \text{g}^{-1}$)			MYC ($\log_{10} \text{g}^{-1}$)		
	0	3	6	0	3	6
	days			days		
1	5.40a	7.90a	8.90a	6.87a	17.52a	30.41a
2	3.30c	6.89b	7.12bc	2.70d	6.67de	7.75d
3	4.75b	7.27b	8.05ab	4.72b	8.12c	15.95bc
4	2.30d	5.05c	7.06c	3.72c	6.06e	7.68d
5	4.59b	6.86b	8.86a	2.70d	6.86d	16.27b
6	2.00e	3.95d	5.90de	2.30e	7.82c	12.36bc
7	0.00f	0.00f	8.14a	0.00g	4.41f	13.25bc
8	2.30d	0.00f	5.18e	1.00f	9.21b	12.65bc
9	0.00f	0.00f	5.41de	0.00g	3.64g	11.56bc
10	0.00f	3.30e	6.28cd	4.60b	3.30g	12.01c

Means with different letters within a column indicate significant differences (Tukey, $p \leq 0.05$) ♦ Medias con letras diferentes en una columna indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$).

1) Control, with no preservatives added; 2) 30% Na-propionate; 3) 0.125% K-sorbate; 4) 0.35% Ca-hydroxide; 5) 0.10% propyl-paraben; 6) 0.30% Na-propionate and 0.10% propyl-paraben; 7) 0.30% Na-propionate, 0.10% propyl-paraben and 0.10% fumaric acid; 8) 0.15% Na-propionate, 0.05% propyl-paraben and 0.10% fumaric acid; 9) 0.30% Na-propionate, 0.15% propyl-paraben and 0.125% K-sorbate; 10) 0.30% Na-propionate, 0.10% fumaric acid and 0.125% K-sorbate.

growth of aerobic bacterial ($8.0 \log_{10} \text{g}^{-1}$) in corn tortillas made without preservatives, evaluated on the first day of storage at 25 °C. The Mexican norm establishes that the maximum BMC value allowed in corn tortillas is $3.30 \log_{10} \text{g}^{-1}$ (PROY-NOM-187-SSA1-2000, Diario Oficial de México, 2000).

The MBC was zero on day 0 in products 7, 9 and 10. On day three of storage at 22±1 °C, treatments 7 to 9 did not show growth of MBC. The absence of MBC in these treatments could be due to the combined effect of the preservatives. However, on day six these treatments (7, 9 and 10) had increased their MBC counts to levels forbidden in México. Table 2 shows that MYC was not observed in products 7 and 9, three hours after baking. The highest counts on the first day occurred in products 1, 3 and 10. On day 3 lower MYC levels were observed in products 7, 9, and 10. On day six all products had higher levels of MYC. Treatments with two or more preservatives were more effective than those with only one. This could be due to a synergic effect among preservatives added to the products. For example, samples containing K-sorbate, propyl-paraben and Na-propionate were more effective against BMC in comparison with preservatives used individually. This may be because individually each preservative is effective against certain types of microorganisms. K-sorbate is effective against a wide range of bacteria (Jay, 1986), specifically on *Salmonella*, *Streptococci* and *Staphylococci*; Propyl-paraben is effective against the inhibition of gram-positive bacteria (Jay, 1986). One advantage of using the propyl-paraben in this study, is that parabens are very effective at pH 7 or higher (Chichester and Tanner, 1977; Jay 1986).

Tabla 2 muestra que no se observó ML en los productos 7 y 9 tres horas después de la cocción. Los conteos más altos en el primer día fueron observados en los productos 7, 9 y 10. En el día seis todos los productos registraron niveles de ML más elevados. Los tratamientos con dos o más conservadores fueron más eficaces que aquellos con sólo uno. Esto podría deberse a un efecto sinérgico entre los conservadores añadidos a los productos. Por ejemplo, las muestras que contenían sorbato-K, propil-parabeno y propiato-Ne fueron más eficaces contra BMA en comparación con los conservadores empleados individualmente. Esto puede deberse a que individualmente cada conservador es eficaz contra ciertos tipos de microorganismos. El sorbato-K es eficaz contra un amplio rango de bacterias (Jay, 1986), específicamente *Salmonella*, *Streptococci* y *Staphylococci*; Propil-parabeno es eficaz contra la inhibición de bacterias gram-positivas (Jay, 1986). Una ventaja de usar propil-parabeno en este estudio es que los parabenos son muy eficaces cuando el nivel del pH es igual o mayor a 7 (Chichester y Tanner, 1977; Jay, 1986).

BMA y ML en tortillas almacenadas a 4 °C

Se observaron valores menores de BMA y ML en el día cero en las tortillas tratadas con una combinación de conservadores, en comparación a cuando se usaron individualmente (Cuadro 3). Los mejores resultados se obtuvieron con los tratamientos 6 a 10 en el octavo día de almacenamiento a 4 °C, donde no se observó crecimiento de BMA. En el día 12 de almacenamiento no se encontraron conteos en los tratamientos 6 y 9. En el día 12

MBC and MYC in tortillas stored at 4 °C

Lower values of MBC and MYC were observed on day zero in the tortillas treated with a combination of preservatives, in comparison to single preservatives (Table 3). The best results were observed in treatments 6 to 10 on day eight of storage at 4 °C, where no growth of BMC was observed. On day twelve of storage no counts were found in treatments 6 and 9. On day twelve of storage the value of BMC for treatments 2 ($3.23 \log_{10} \text{g}^{-1}$), 3 ($2.30 \log_{10} \text{g}^{-1}$) and 10 ($3.18 \log_{10} \text{g}^{-1}$) were within the limits allowed by the Norm established by the Secretaría de Salud of México (PROY-NOM-187-SSA1-2000, Diario Oficial de México, 2000). On day sixteen treatments 6 ($2.74 \log_{10} \text{g}^{-1}$) and 9 ($2.19 \log_{10} \text{g}^{-1}$) were the only products within the allowed limits.

Similar results were observed in MYC. After eight days of storage at 4 °C, no growth of MYC was observed in products 9 and 10, and only a moderate one in treatments 2 ($1.78 \log_{10} \text{g}^{-1}$), 4 ($2.48 \log_{10} \text{g}^{-1}$), 7 ($2.48 \log_{10} \text{g}^{-1}$) and 8 ($2.70 \log_{10} \text{g}^{-1}$). On day twelve at 4 °C only treatments 4 and 10 had no growth of molds or yeasts. In treatment 10 growth of MYC did not occur after sixteen d of storage.

In treatments 9 and 10 high levels of sodium propionate (0.30%) and potassium sorbate (0.125%) were included. Also, propyl-paraben (0.15%) was added to treatment 9, and fumaric acid (0.10%) to treatment 10. It is possible that the main inhibiting effects could be due to the synergism between sodium propionate and potassium sorbate, included in treatments 9 and 10 plus the effect of the acidification provided by either fumaric

de almacenamiento el valor de BMA para los tratamientos 2 ($3.23 \log_{10} \text{g}^{-1}$), 3 ($2.30 \log_{10} \text{g}^{-1}$) y 10 ($3.18 \log_{10} \text{g}^{-1}$) estuvieron dentro de los límites permitidos por la norma establecida por la Secretaría de Salud de México (PROY-NOM-187-SSA1-2000, Diario Oficial de México, 2000). En el día 16 los tratamientos 6 ($2.74 \log_{10} \text{g}^{-1}$) y 9 ($2.19 \log_{10} \text{g}^{-1}$) fueron los únicos productos que estuvieron dentro de los límites permitidos.

Se observaron resultados similares en ML. Después de ocho días de almacenamiento a 4 °C, no se observó crecimiento alguno de ML en los productos 9 y 10, y sólo uno moderado en los tratamientos 2 ($1.78 \log_{10} \text{g}^{-1}$), 4 ($2.48 \log_{10} \text{g}^{-1}$), 7 ($2.48 \log_{10} \text{g}^{-1}$) y 8 ($2.70 \log_{10} \text{g}^{-1}$). En el día 12, a 4 °C, sólo los tratamientos 4 y 10 no presentaron crecimiento de mohos ni de levaduras. En el tratamiento 10 no se registró crecimiento alguno después de 16 d de almacenamiento.

En los tratamientos 9 y 10 se incluyeron niveles altos de propionato de sodio (0.30%) y de sorbato de potasio (0.125%); asimismo, se añadió propil-parabeno (0.15%) al tratamiento 9 y ácido fumárico (0.10%) al tratamiento 10. Es posible que los principales efectos inhibidores puedan deberse al sinergismo entre el propionato de sodio y el sorbato de potasio incluidos en los tratamientos 9 y 10, así como al efecto de acidificación producido ya sea por el ácido fumárico o el propil-parabeno. Estos resultados concuerdan con los de Téllez-Girón *et al.* (1988), quienes obtuvieron sus mejores resultados con una mezcla de conservadores acidificados con ácido fumárico. Los productos con propil-parabeno (6 a 9) fueron más eficaces contra los mohos y las levaduras, especialmente con pH igual o mayor a 7.0.

Table 3. Effect of preservatives on BMA and MYC of corn tortillas stored at 4 °C.

Cuadro 3. Efecto de los conservadores en BMA y ML de las tortillas de maíz almacenadas a 4 °C.

Products	BMA				MYC			
	0	8	12	16	0	8	12	16
	days				days			
1	5.00a	4.53a	4.63b	5.04a	6.87a	6.97a	11.91a	17.75a
2	3.30c	2.00e	3.23d	0.00e	2.70d	1.78e	3.48d	0.00e
3	4.75b	2.84d	2.30e	3.60b	4.72b	4.95b	10.18b	10.95b
4	2.30d	4.11b	4.39bc	1.30d	3.72c	2.48d	0.00e	1.60de
5	4.59b	3.54c	7.95a	3.87b	2.70d	3.36c	3.90d	6.65c
6	2.00e	0.00f	0.00f	2.74c	2.30e	2.93cd	3.40d	6.92c
7	0.00f	0.00f	3.60cd	4.08b	0.00g	2.48d	3.90d	7.48c
8	2.30d	0.00f	3.40d	3.74b	1.00f	2.70d	6.48c	6.72c
9	0.00f	0.00f	0.00f	2.19c	0.00g	0.00f	3.00d	3.65d
10	0.00f	0.00f	3.18d	3.74b	4.60b	0.00f	0.00e	0.00e

Means with different letters within a column indicate significant differences (Tukey, $p \leq 0.05$) ♦ Medias con letras diferentes en una columna indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$).

1) control, with no preservatives added; 2) 30% Na-propionate; 3) 0.125% K-sorbate; 4) 0.35% Ca-hydroxide; 5) 0.10% propyl-paraben; 6) 0.30% Na-propionate and 0.10% propyl-paraben; 7) 0.30% Na-propionate, 0.10% propyl-paraben and 0.10% fumaric acid; 8) 0.15% Na-propionate, 0.05% propyl-paraben and 0.10% fumaric acid; 9) 0.30% Na-propionate, 0.15% propyl-paraben and 0.125% K-sorbate; 10) 0.30% Na-propionate, 0.10% fumaric acid and 0.125% K-sorbate.

acid or propyl-paraben. These results agree with those of Téllez-Girón *et al.* (1988), who obtained their best results with a blend of preservatives acidified with fumaric acid. Products containing propyl-paraben (6 to 9) were more effective against molds and yeasts, particularly when pH was 7.0 or higher.

Shelf-life with the different products

Tortilla shelf life is shown in Table 4, and is determined as the day in which mold appeared. Shelf-life of products 1 to 8 was three d when stored at 22 ± 1 °C. Shelf life of products 9 and 10 was six d.

At 4 °C, tortillas in the control treatment were spoilt after eight d of storage, while in the other treatments the shelf life of the tortillas was extended up to 12 d. Tortillas added with Na-propionate blended with K-sorbate and either propyl-paraben or fumaric acid had a shelf life of more than 16 d.

The molds detected in the tortillas were from *Monilia*, *Penicilium* and *Aspergillus* species, and were detected by a microscopic evaluation, after observing the morphological characteristics of the colony. These molds probably were present in the air and in the mill used to grind the cooked maize.

CONCLUSIONS

The combined action of two or more preservatives was more effective in inhibiting the growth of microorganisms in the tortillas. Moreover, the combined

Vida de anaquel con los diferentes productos

La vida útil de la tortilla se muestra en la Tabla 4, y se definió como el día en que apareció el moho. La vida útil de los productos 1 a 8 fue de tres d almacenados a 22 ± 1 °C. La vida útil de los productos 9 y 10 fue seis d.

A 4 °C las tortillas del tratamiento testigo se dañaron a los ocho d de almacenaje, mientras que la vida útil de las tortillas de los otros tratamientos se prolongó hasta 12 d. Las tortillas con propionato-Na mezcladas con sorbato-K y ya sea con propil-parabeno o con ácido fumárico tuvieron una vida útil de más de 16 d.

Los mohos detectados en las tortillas fueron de las especies *Monilia*, *Penicilium* y *Aspergillus* y fueron detectados mediante una evaluación microscópica luego de observar las características morfológicas de la colonia. Estos mohos estaban probablemente en el aire y en el molino utilizado para moler el maíz cocido.

CONCLUSIONES

La acción combinada de dos o más conservadores fue más efectiva en la inhibición del crecimiento de microorganismos en las tortillas. Además, el efecto combinado de los conservadores, aunado a la refrigeración, fue muy eficaz en la inhibición del crecimiento de microorganismos y extendió la vida útil de la tortilla.

—Fin de la versión en Español—



Table 4. Shelf-life of corn tortillas made from extruded masas containing preservatives.

Cuadro 4. Vida útil de las tortillas de maíz elaboradas con masas extrudidas que contienen conservadores.

Treatments	Shelf life (days)	
	22 °C	4 °C
1	3	8
2	3	12
3	3	12
4	3	12
5	3	12
6	3	12
7	3	12
8	3	12
9	6	16
10	6	16

1) control, with no preservatives added; 2) 30% Na-propionate; 3) 0.125% K-sorbate; 4) 0.35% Ca-hydroxide; 5) 0.10% propyl-paraben; 6) 0.30% Na-propionate and 0.10% propyl-paraben; 7) 0.30% Na-propionate, 0.10% propyl-paraben and 0.10% fumaric acid; 8) 0.15% Na-propionate, 0.05% propyl-paraben and 0.10% fumaric acid; 9) 0.30% Na-propionate, 0.15% propyl-paraben and 0.125% K-sorbate; 10) 0.30% Na-propionate, 0.10% fumaric acid and 0.125% K-sorbate.

effect of the preservatives, coupled with refrigeration, was very effective in inhibiting the growth of microorganisms, and made possible an extended shelf life.

LITERATURE CITED

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Ed. by Association of the Official Analytical Chemists. Arlington, USA. pp: 428-429.
- Diario Oficial de México. Proy-Nom-187-SSA1-2000. 22 de Mayo del 2000. p:77.
- Chichester D., F., and F. Tanner W. 1977. Chapter 3: Antimicrobial Food Additives. In: Furia T. E. Handbook of Food Additives. Second edition. p:125.
- Islam M., N., M. Lirio E., and F. DelValle R. 1984. Mold inhibition in tortilla by dimethyl fumarate. J. Food Processing and Preservation. 8: 41-45.
- Iturbe C., F., A., A. R. Lucio M., and A. López-Munguía. 1996. Shelf-life of tortilla extended with fungal amylases. International Journal of Food Science and Technology. 31: 505-509.
- Jay J. M. 1986. Modern Food Microbiology. Chapter 11. Food preservation with chemicals. Van Norstrand Reinhold Company, New York. Third Edition. p: 260, 263.
- Johnson B., A., L. Rooney W., and M. Khan N. 1980. Tortilla-making characteristics of micronized sorghum and corn flours. J. Food Science. 45: 671-673

- Luke T., and C. Andres. 1981. Tortilla shelf life increased by over 50%. *Food Processing*. 42: 32.
- Martínez B., F., J. D. Figueroa C., F. Sánchez-Sinencio., J. Gonzalez-Hernandez., J. Martínez L., and M. Ruiz T. 1996. Method for the preparation of instant fresh corn dough or masa. Patent Number: 5,532,013. July 2.
- Paredes-López O., and M. Saharópulos E. 1983. Scanning electronmicroscopy studies of limed corn kernels for tortilla making. *J. Fd. Technology*. 17: 687-693.
- Rubio M., J. 1972a. Tortilla and process using epichlorohydrin. U.S. Patent 3,690,893.
- Rubio M., J. 1972b. Tortilla and process using polycarboxylic acids and their anhydrides. U.S. Patent 3,694,224.
- Rubio M., J. 1973. Tortilla and process using hydrophilic inorganic gels. U.S. Patent 3,709,696.
- Rubio M., J. 1974a. Tortilla and process using methyl, ethyl, butyl, and propyl esters of parahydroxybenzoic acid. U.S. Patent 3,853,998.
- Rubio M., J. 1974b. Tortilla and process using ascorbic acid and its salts. U.S. Patent 3,853,997.
- Rubio M., J. 1975. Tortilla and process using acetic and propionic acids. U.S. Patent 3,859,449.
- SAS. 1985. Statistical Analysis System User's Guide. Version 5. Cary NC: SAS Institute Inc. pp: 19-32.
- Téllez-Girón A., G. Acuff R., Vanderzant, and C. L. Rooney W. 1988. *J. Food Protection*. 51 (12): 945-948.
- Wall Street Journal. 1993. Flour power. Mexico's campaign to modernize sparks battle over tortilla, Sept., 9.