



Investigación y Ciencia

ISSN: 1665-4412

revistaiyc@correo.uaa.mx

Universidad Autónoma de Aguascalientes

México

Mercado Ruiz, Jorge Nemesio; Madera Santana, Tomás Jesús; Yocupicio Yevisme, Juan

Evaluación de un recubrimiento comestible a base de agar y ácido cítrico

Investigación y Ciencia, vol. 23, núm. 65, mayo-agosto, 2015, pp. 33-39

Universidad Autónoma de Aguascalientes

Aguascalientes, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=67443217005>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal  
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

## Evaluación de un recubrimiento comestible a base de agar y ácido cítrico

### Edible coating evaluation based on agar and citric acid

Jorge Nemesio Mercado Ruiz<sup>1</sup>, Tomás Jesús Madera Santana<sup>2\*</sup>,  
 Juan Yocupicio Yevisme<sup>3</sup>

Mercado Ruiz, J. N., Madera Santana, T. J., Yocupicio Yevisme, J. Evaluación de un recubrimiento comestible a base de agar y ácido cítrico. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. Número 65: 33-39, mayo-agosto 2015.

#### RESUMEN

Se evaluó el desempeño de un recubrimiento comestible a base de agar y ácido cítrico empleando como modelo de prueba papa fresca (*Solanum tuberosum*). Esta fue tratada por inmersión con soluciones de agar (A), agar-ácido cítrico (AC), agar-glicerol (AG) y la mezcla de los tres (ACG). La película con base AC presentó los valores menores de grosor y velocidad de transmisión al vapor de agua. El recubrimiento del fruto con AC redujo 1.57 veces la pérdida de peso con respecto al testigo. Además, presentó valores mayores de luminosidad, croma, mantuvo las características sensoriales y redujo la presencia de brotes en papa después de 6 días a 20 °C. La microscopía electrónica de barrido no reveló cambios morfológicos substanciales en el producto con los tratamientos aplicados. Los resultados demuestran que la formulación a base de agar y ácido cítrico (AC) presentó las características de una película semipermeable y de recubrimiento comestible.

**Palabras clave:** papa, recubrimiento comestible, agar, glicerol, ácido cítrico.

**Keywords:** potato, edible coating, agar, glycerol, citric acid.

Recibido: 17 de febrero de 2014, aceptado: 29 de enero de 2015

<sup>1</sup> Laboratorio de Cereales, Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal, CIAD, A. C.

<sup>2</sup> Laboratorio de Envases, Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal, CIAD, A. C.

<sup>3</sup> Universidad Tecnológica de Etchojoa.

\* Autor para correspondencia: madera@ciad.mx

#### ABSTRACT

The performance of an edible coating based on agar and citric acid over potato (*Solanum tuberosum*) was evaluated. The potatoes were tried by immersion with solutions of Agar (A), Agar-Citric acid (AC), Agar-Glycerol (AG), and a mixture of the three (ACG). AC based film showed the lowest thickness values and rate of water vapor transmission. Coating the fruit with AC reduced 1.57 times weight loss compared to the control. Moreover, AC showed higher brightness values, chrome, kept the sensory characteristics and reduced the presence of potato sprouts after 6 days at 20 °C. In scanning electron microscopy no substantial morphological changes were observed in potatoes with the applied treatments. The results show that the formulation based on agar and citric acid (AC) had the characteristics of semipermeable film and edible coating.

#### INTRODUCCIÓN

Recientemente se ha reportado el uso de películas o recubrimientos comestibles y biodegradables a partir de polímeros naturales (celulosa, almidón, quitosano y agar), debido a su riqueza natural, biodegradabilidad y fuentes renovables (Nieto, 2009). Estas películas tienen el potencial para reemplazar los envases convencionales en algunas aplicaciones. A pesar de tener una alta permeabilidad al vapor de agua, estos polisacáridos son eficaces como barrera para el transporte de gases. Por esto, se han elaborado películas comestibles de almidón, las cuales se han reportado que presentan buenas propiedades de barrera y una alta permeabilidad al vapor de agua (Bertuzzi et al., 2007).

Por otro lado, están los ficocoloides como el agar, el cual es extraído de algas rojas, que es un biopolímero biodegradable y comestible (Madera-Santana et al., 2011). Las recientes aplicaciones del agar en la ciencia de materiales permiten entrever su potencial (Madera Santana et al., 2009).

Sin embargo, las películas de biopolímeros (almidón, quitosano, agar, etc.) son rígidas y frágiles, por lo que requieren la incorporación de un plastificante que les imparte flexibilidad, reduce las fuerzas intermoleculares y aumenta la movilidad de la cadena, lo que aumenta la difusión de los gases (Koskinen et al., 1996). Por ello se busca que las películas presenten un equilibrio entre la capacidad de barrera a los gases y sus propiedades mecánicas (Glenn et al., 2007). Entre los plastificantes más comunes se encuentran el glicerol, sorbitol y polietilenglicol (PEG). Se ha reportado que la permeabilidad al vapor de agua es directamente proporcional al contenido de plastificante (Talja et al., 2007). Bertuzzi et al. (2007) observaron que la permeabilidad al vapor de agua en películas de almidón con 60% de glicerol fue dos veces mayor con respecto a las películas libres de glicerol.

Se ha reportado que en las películas comestibles pueden utilizarse aditivos para potenciar su efecto en las diferentes matrices donde se apliquen. Estos aditivos pueden ser sanitizantes (agentes antimicrobianos) para desinfectar frutas y vegetales, los cuales deben ser eficientes en la inactivación de patógenos y mantener la calidad sensorial del producto (Allende et al., 2008). Los ácidos orgánicos se han utilizado en la industria alimentaria para extender la vida de anaquel de algunos productos, aunque se aplican en altas concentraciones. Estos ácidos pueden inactivar microorganismos debido a la acidificación del citoplasma de la célula bacteriana (Virto et al., 2005). Algunos de ellos son el ácido propiónico, acético, málico, cítrico, láctico y tartárico, entre otros (Huang y Chen, 2011).

El objetivo del presente estudio fue evaluar las características fisicoquímicas de los recubrimientos comestibles hechos a base de agar, ácido cítrico y glicerol; así como su efecto sobre las propiedades físicas y sensoriales en papa fresca.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Preparación de la película

Se utilizó agua destilada, agar grado alimenticio (Agarmex, S. A., México), glicerol 99.5% y ácido cítrico

99.5% (Sigma-Aldrich, EE UU) en su preparación. Los componentes se colocaron en agua a 80 °C por 1 h. La solución se vació en cajas Petri, por evaporación del solvente se formó la película y se le evaluaron las siguientes características:

**Grosor.** El espesor de las películas de agar con y sin aditivos se determinó utilizando un medidor de espesores electrónico (Mitutoyo, Japón) con una resolución de 0.001 mm. Cada película se midió en 10 zonas diferentes y se determinaron los valores medios.

**Velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA).** Se utilizó la norma ASTM E96 para su determinación. La película se fijó a un recipiente plástico que contenía 50 mL de agua destilada y se almacenó en un desecador a 25 °C. Se registró el cambio en peso y los cálculos se realizaron a partir de la pendiente de cada línea por regresión lineal ( $r^2 > 0.98$ ). Ecuación 1:

$$VTVA = \frac{w}{t A}$$

Donde w es la diferencia en peso del recipiente con la película en g, t es el tiempo en h, y A es el área de permeación ( $1.257 \times 10^{-3} \text{ m}^2$ ), los ensayos se realizaron por triplicado.

### Preparación del recubrimiento y tratamientos aplicados

Como vegetal de prueba se utilizó papa variedad alpha proveniente de los campos agrícolas El Canario, S.A de C.V. de Huatabampo, Sonora; con un estado de madurez de 100%. La papa fue seleccionada evitando material con daños y se lavó con solución de cloro comercial a 200 ppm. Se dejó secar y posteriormente se recubrió con la película. Se consideraron cuatro tratamientos: fruto sin recubrimiento como testigo (T), con agar (A), agar-ácido cítrico (AC), agar-glicerol (AG) y agar-ácido cítrico-glicerol (ACG). Para ello se utilizaron 200 mL de agua desionizada, 2 g de agar y, según el caso, se agregaron 10 mL de ácido cítrico al 5% y/o 0.2 g de glicerol. La solución de cada tratamiento se calentó a 80 °C durante 1 h con agitación continua. La mezcla se dejó enfriar hasta 50 °C y se aplicó a 6 frutos por inmersión durante 5 s. Las evaluaciones en papa fueron cada 2 días (d) durante 3 semanas.

**Pérdida de peso.** Esta se registró diariamente a los frutos de cada tratamiento por triplicado durante el almacenamiento, mediante una balanza digital

Ohaus (Voyager, Suiza) y se reportó como porcentaje de pérdida de peso (A.O.A.C., 1984). Ecuación 2:

$$\% \text{ Pérdida de peso} = \left[ \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso diario del fruto}}{\text{Peso inicial}} \right] \times 100$$

**Color.** Para la medición de los parámetros de color se utilizó un colorímetro Minolta Hunter Lab midiendo en una zona circular marcada en la parte ecuatorial del exocarpio de la papa. Se determinaron los valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , así como el croma y el ángulo Hue (Minolta, 1994). Ecuación 3:

$$\text{Croma} = [ (a^*)^2 + (b^*)^2 ]^{1/2}$$

Ecuación 4:

$$\text{Hue} = \text{arc tan} \left( \frac{b^*}{a^*} \right)$$

**Prueba sensorial.** Esta se llevó a cabo en 30 panelistas no entrenados, a los cuales se les aplicó una prueba triangular para evaluar su distinción entre las muestras (Liria, 2007). En los tratamientos se analizaron cinco rebanadas de 3 cm de grosor con una escala hedónica de 15 cm. Las variables fueron: textura firme, semi blanda y blanda; sabor a papa, insípida, ligero o mucho; y color del mesocarpo, amarillo-claro, amarillo-intenso o tendiendo a café. Los datos se evaluaron como frecuencia de observaciones (%) de los panelistas sobre las características de la papa a 13 d de almacenamiento a 20 °C.

**Daños visuales.** Se evaluó por triplicado la frecuencia, así como el día de aparición de los daños como manchas, manchas acuosas (%) y la presencia de hongos durante el almacenamiento del producto por 24 d a 20 °C.

**Morfología de la sección transversal por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).** Al concluir el tiempo de almacenamiento a 20 °C se obtuvieron muestras de los frutos con y sin tratamiento, para ser analizadas en su sección transversal por MEB. La muestra se extrajo del producto empleando un sacabocado de 5 mm de diámetro. Las muestras fueron microfotografiadas con el fin de describir la textura y características topográficas de la superficie, empleando un microscopio electrónico de barrido FEI-Philips (XL 30 ESEM, Alemania) en modo ambiental, con un voltaje de aceleración de 25 kV. El grosor de los recubrimientos se midió directamente sobre las imágenes de MEB a una magnificación de 500X.

**Análisis estadístico.** Las mediciones de los ensayos se realizaron por triplicado, utilizando la prueba de Tukey-Kramer para determinar las diferencias entre las medias ( $p<0.05$ ) por medio del paquete estadístico NCSS V6.0.

## RESULTADOS

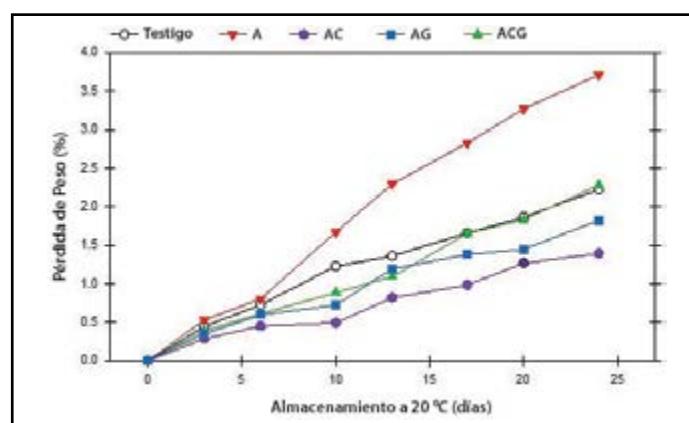
### Grosor y VTVA de la película

En la Tabla 1 se muestra el grosor de las películas. Aquellas que contienen glicerol (AG y ACG) en su formulación presentaron casi el doble de grosor (2 mm) con respecto al recubrimiento AC (1.023 mm) y con A (1.473 mm). Con respecto a la VTVA, las películas con A presentaron mayor permeabilidad al vapor de agua y son significativamente mayores ( $p\leq 0.05$ ) al resto de los tratamientos. Asimismo, las películas de AC presentaron el menor valor de VTVA.

**Tabla 1.** Grosor y VTVA de las películas de los diferentes tratamientos

Tratamiento	Grosor (micras)	VTVA (g/m <sup>2</sup> /d)
A	1.473 ± 0.144*	1750 ± 81.2**
AC	1.023 ± 0.138	1007 ± 59.1
AG	1.997 ± 0.143	1201 ± 126.6
ACG	2.060 ± 0.161	1204 ± 111.4

\*Media de 9 repeticiones, \*\*media de 3 repeticiones, ± desviación estándar.

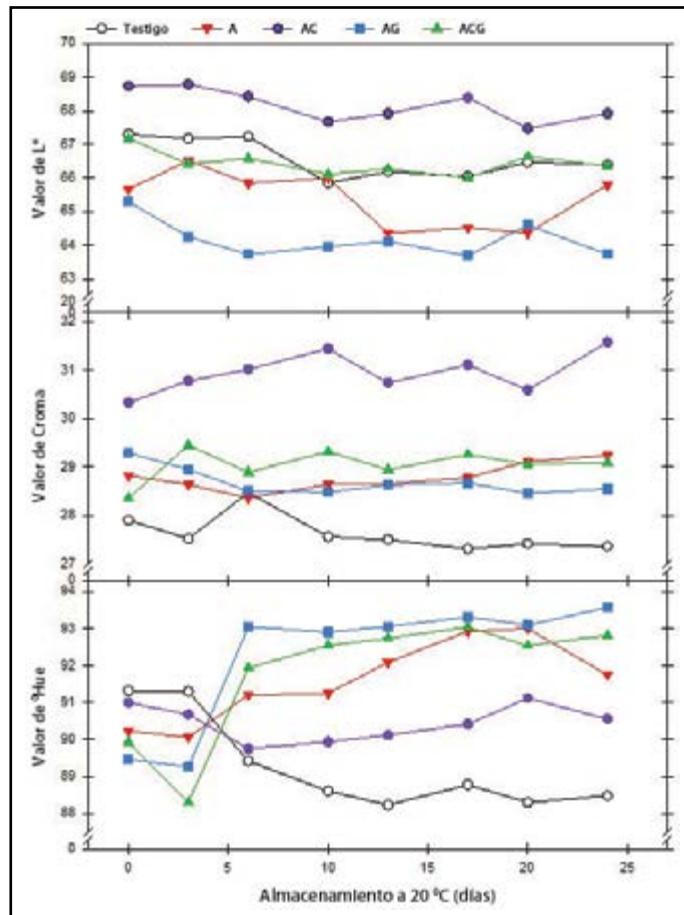


**Figura 1.** Evolución de la pérdida de agua (%) en papa sin recubrimiento (testigo) y con los diferentes tratamientos durante 25 días a 20 °C.

### Pérdida de peso y cambios en color de papa fresca

Con respecto al efecto barrera que se midió como la pérdida de agua, las muestras con recubrimiento A mostraron una pérdida de peso 1.3 veces mayor

que el testigo, después de 10 d a 20 °C (Figura 1). Después de 25 d, las muestras con el recubrimiento A presentaron 1.73 veces más pérdida de peso que las muestras testigo y con el recubrimiento ACG. En contraste, la menor pérdida de peso fueron las muestras recubiertas con AC, que fueron 1.57 veces menor que la testigo.



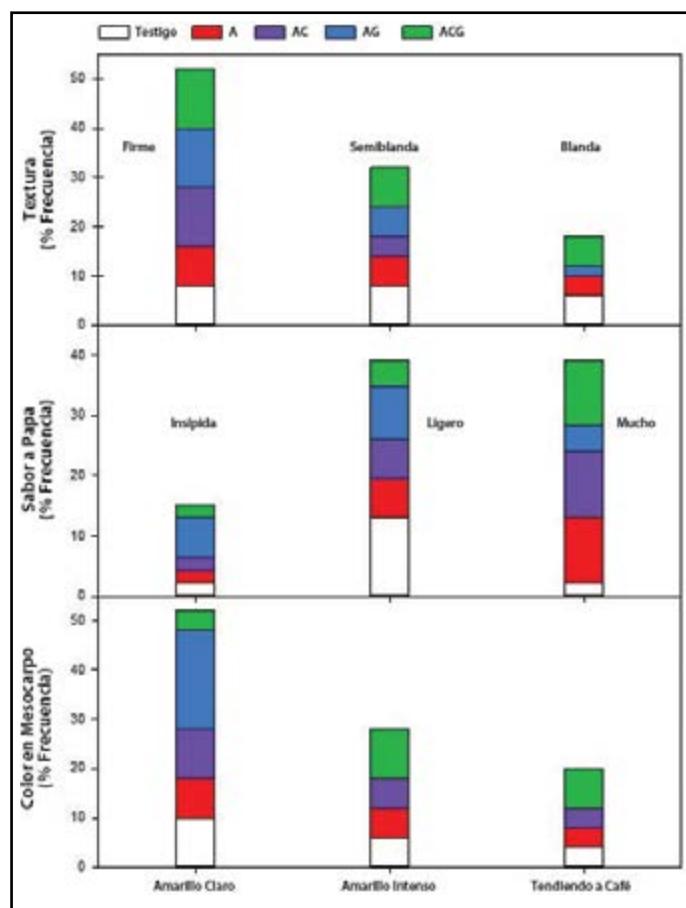
**Figura 2.** Cambios de color en las variables de L\*, Croma y ángulo Hue en papa sin recubrimiento (testigo) y con los diferentes tratamientos durante 25 días a 20 °C.

Por otra parte, los cambios en color (Figura 2) del mesocarpo de la papa solo resultaron medibles en las variables L\*, Croma y °Hue. Las muestras con el recubrimiento AC presentaron mayor luminosidad y valores de Croma, en comparación con los otros tratamientos durante el periodo de almacenamiento a 20 °C. Valores de L\* por debajo de 65 se observaron en las muestras con los recubrimientos de AG y A, después de 10 d. Esto es 1.02 veces menos que las muestras con los recubrimientos ACG y T, y 1.06 veces menor en comparación con la muestra con recubrimiento AC. Los cambios de °Hue fueron más estables en la muestra con recubrimiento AC. Los

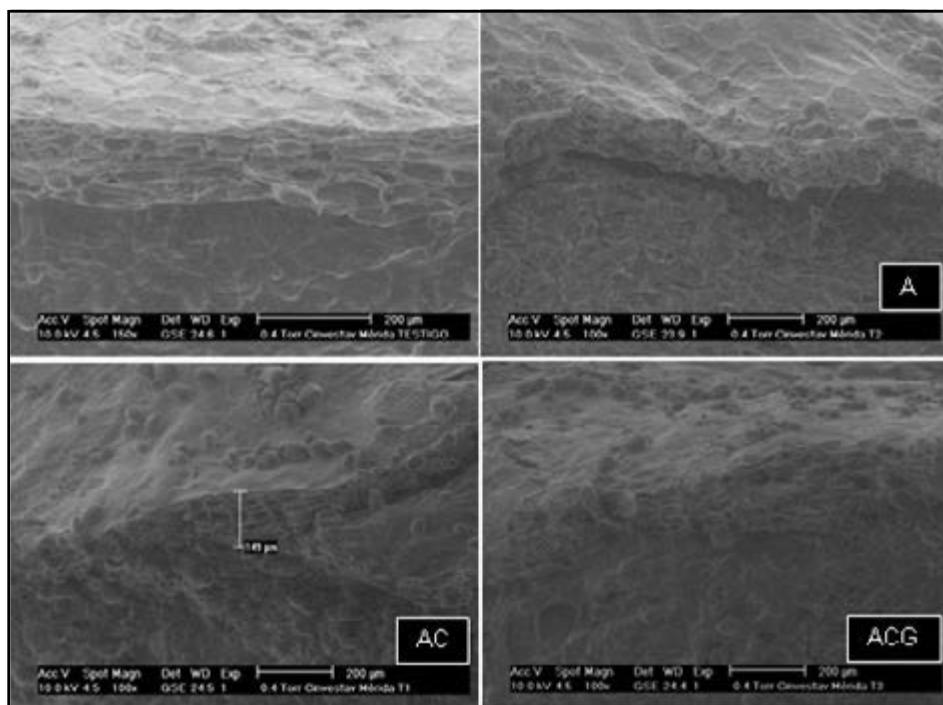
menores valores de °Hue fueron presentados por la muestra testigo, mientras que los más altos fueron observados de las muestras con los otros tratamientos. Los valores de Croma y °Hue en la esfera de colores para las muestras con recubrimiento AC señalan que la coloración de las muestras con este tratamiento fue de café claro-amarillo.

### Evaluación sensorial de los recubrimientos en el fruto de prueba

Los resultados de la evaluación sensorial a 30 panelistas no-entrenados sobre las características de la papa después de 13 días de almacenamiento a 20 °C se presentan en la Figura 3. En textura, la característica firme fue la que mayor porcentaje en la frecuencia de observaciones presentó en las muestras con los recubrimientos AC y AG. La textura semiblanda y blanda fue observada con mayor porcentaje en la muestra testigo y con recubrimiento ACG. La variable



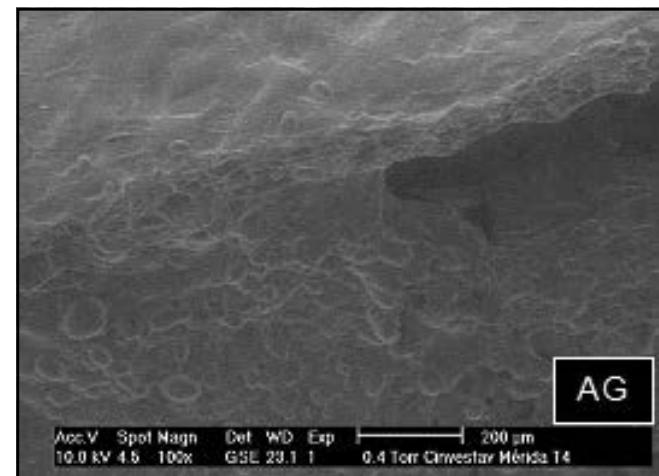
**Figura 3.** Frecuencia de observaciones (%) de los panelistas en función de la textura, sabor a papa y color en mesocarpo de papa sin recubrimiento (testigo) y con los diferentes tratamientos en la evaluación sensorial.



**Figura 4.** Imágenes de microscopía electrónica de barrido (MEB) de la sección transversal de cilindros de papa sin recubrimiento (testigo) y los diferentes tratamientos.

sabor a papa, la respuesta de *mucho* ha mostrado el mayor porcentaje en las muestras con recubrimientos A, AC y ACG; mientras que la muestra testigo presentó el mayor porcentaje en sabor a papa *ligero* y la muestra con recubrimiento AG fue clasificada como sabor a papa *insípida*. Finalmente, en la evaluación del color del mesocarpo de la capa la característica de color amarillo-claro presentó el mayor porcentaje de preferencia de los panelistas y corresponde a las muestras con los recubrimientos AG, AC y testigo. La mayor frecuencia en el color amarillo intenso y *tendiendo a café* se observó en la muestra con el recubrimiento ACG, las muestras con los otros recubrimientos tuvieron frecuencias semejantes.

En cuanto a los daños visuales, se observó que después de 6 d a 20 °C hubo presencia de brotes, excepto en las muestras con los recubrimientos AC y ACG. A los 17 d los frutos testigo presentaron manchas acuosas en el peridermo, y después de 20 d se observaron hongos y manchas acuosas. En los otros tratamientos se presentó el manchado, pero este no fue acuoso. Muestras con recubrimiento AC presentaron el manchado después de 17 d, pero no se observó la presencia de hongos en estas muestras. Después de 24 d la mayoría de los frutos presentaron brotación, manchas y presencia de hongos.



**Figura 5.** Imágenes MEB de la sección transversal de cilindros de papa con recubrimiento de agar-glicerol (AG).

En las micrografías de MEB (Figuras 4 y 5), fue posible observar algunas diferencias como la presencia de los gránulos de almidón, mayormente en las muestras con los recubrimientos AC y ACG. Las microfotografías no señalan cambios sobre la superficie del producto recubierto, con excepción de las células de la cáscara. Estas se ven menos aplastadas en estos tratamientos que en el testigo, incluso que las recubiertas solo con agar. En el

recubrimiento se determinó un grosor promedio de 2 mm (10 repeticiones) para todos los tratamientos.

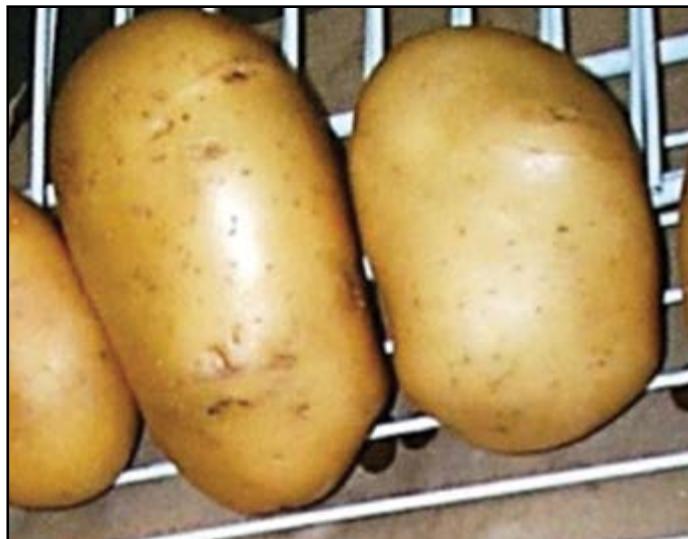
## DISCUSIÓN

De los resultados anteriores, el recubrimiento AC, así como ACG en algunas variables presentaron efectos positivos: menor pérdida de peso y VTVA en el producto recubierto, cambios de color más estables y mayor luminosidad ( $L^*$ ). Estos efectos probablemente estén relacionados con el pH menos alcalino (2.9), ya que los recubrimientos de A y AG tienen un pH promedio de 7.3. Aguilar Méndez (2005) obtuvo películas de almidón-glicerol a concentraciones de plastificante menores al 0.3 % y a pH alcalinos (8.5), lo que disminuyó la resistencia a la ruptura y aumentó la difusión al vapor de agua. Pero al aplicar la película a menor pH (6.0) en aguacate, mantuvo los valores de  $L^*$ , disminuyó la pérdida de peso y mejoró la valoración sensorial del producto recubierto con respecto al testigo. Estos resultados son similares a los obtenidos en este estudio, donde el recubrimiento de la papa con AC favoreció a los atributos sensoriales evaluados.

Saavedra y Algecira (2010) obtuvieron resultados favorables en la evaluación sensorial al recubrir fresas "ventana" con 50:50 almidón de yuca y proteína aislada de soya a pH 10. Fazel et al. (2012) observaron que el uso de glicerol en películas a base de almidón de papa reduce la resistencia a la tracción, el módulo de elasticidad y la transparencia UV; asimismo, notaron que se incrementó la opacidad, la solubilidad y la VTVA; igual que en el presente estudio. El grosor del recubrimiento de agar (1-2 micras) que se observó en este trabajo fue mucho menor que el reportado en otros trabajos con 25 micras (Aguilar Méndez, 2005), 50 micras (García et al., 2000) o 200 micras (López de Lacey et al., 2014).

La presencia de ácido cítrico en el recubrimiento de agar pudo tener un efecto sinérgico en su formulación, lo cual se notó con una mejora en las propiedades de la misma. Famá et al. (2003), al utilizar sorbato como agente antimicrobiano en un recubrimiento de almidón de mandioca y glicerol, obser-

varon un aumento de la elongación a la ruptura del polímero, lo que modifica la respuesta del recubrimiento a lo largo del tiempo de almacenamiento. Esta misma sinergia permite mantener los cambios en color de los frutos donde se emplean recubrimientos para mantener su calidad (Ayrancı y Tunc, 2003). Finalmente, la morfología de las imágenes en MEB para los tratamientos aplicados, especialmente para AC, podría relacionarse con la disminución en la pérdida de agua, dado que mantienen su estructura. Saavedra y Algecira (2010) relacionaron la pérdida de las estructuras típicas de la materia prima con la formación de un material de menor continuidad y compactación en fresa recubierta con película de almidón de yuca y proteína aislada de soya.



**Figura 6.** Papa fresca (*Solanum tuberosum*) con recubrimiento comestible a base de agar. Fotografía propiedad de Tomás Jesús Madera Santana.

## CONCLUSIONES

Se desarrolló un recubrimiento biopolimérico a base de agar, adicionado con ácido cítrico y glicerol. El recubrimiento comestible a base de agar y ácido cítrico (AC) mantuvo las características sensoriales y de calidad, además redujo la pérdida de agua con respecto al testigo después de 25 días de almacenamiento. Estos resultados demuestran el potencial de utilizar el agar en conjunto con otros aditivos, como recubrimiento comestible en alimentos vegetales.

## LITERATURA CITADA

- AGUILAR MÉNDEZ, M. A. *Propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate.* Tesis, México, D. F.: CICATA-IPN, 51-96, 2005.
- ALLENDE, A. et al. Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, 49(1):155-163, 2008.
- A.O.A.C. *Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists.* Washington, DC, 1984.
- AYRANCI, E. y TUNC, S. A method for the measurement of the oxygen permeability and the development of edible films to reduce the rate of oxidative reactions in fresh foods. *Food Chemistry*, 80: 423-431, 2003.
- BERTUZZI, M. A. et al. Water vapor permeability of edible starch based films. *Journal of Food Engineering*, 80(3): 972-978, 2007.
- FAMÁ, L. et al. Películas comestibles de aplicación industrial. *Jornadas SAM/CONAMET/SIMPOSIO MATERIA*, Centro atómico Bariloche, Río Negro, Argentina, 898-901, 2003.
- FAZEL, M. et al. Effects of salep, glycerol and sunflower oil on potato starch-based edible film. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 6(4): 93-102, 2012.
- GARCÍA, M. A. et al. Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. *Journal of Food Science*, 65(6): 941-947, 2000.
- GLENN, G. M. et al. Controlled release of 2-heptanone using starch gel and polycaprolactone matrices and polymeric films. *Polymers for Advanced Technologies*, 18(8): 636-642, 2007.
- HUANG, Y. y CHEN, H. Effect of organic acids, hydrogen peroxide and mild heat on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on baby spinach. *Food Control*, 22(8): 1178-1183, 2011.
- KOSKINEN M. et al. Effect of pretreatment on the film forming properties of potato and barley starch dispersions. *Industrial Crops and Products*, 5(1): 23-34, 1996.
- LIRIA DOMÍNGUEZ, M. A. Pruebas discriminatorias. Cap.4. *Guía para la evaluación sensorial de alimentos* (pp. 12). Lima, Perú: Agrosalud, 2007.
- LÓPEZ DE LACEY, A. M. et al. Agar films containing green tea extract and probiotic bacteria for extending fish shelf-life. *LWT - Food Science and Technology*, 55(2): 559-564, 2014.
- MADERA SANTANA, T. J. et al. Physicochemical properties of biodegradable polyvinyl alcohol-agar films from red algae *Hydrodunalia cornea*. *Marine Biotechnology*, 13(4): 793-800, 2011.
- MADERA SANTANA, T. J. et al. Preparation and characterization of biodegradable Agar/Poly(butylene adipate-co-terephthalate) composites. *Polymer Engineering and Science*, 49(6): 1117-1126, 2009.
- MINOLTA. *Precise Color Communication. Color control for feeling to instrumentation.* [Booklet]. Osaka, Japan: Minolta, 18, 1994.
- NIETO, M. B. Structure and function of polysaccharide gum-based edible films and coatings. En K. C. Huber y M. E. Embuscado (Eds.), *Edible films and coatings for food applications* (pp. 57-112). New York: Springer, 2009.
- SAAVEDRA, H. y ALGECIRA, E. Evaluación de películas comestibles de almidón de Yuca y proteína aislada de soya en la conservación de fresas. *Publicación científica en ciencias biomédicas - NOVA*, 8(14): 171-182, 2010.
- TALJA, R. A. et al. Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. *Carbohydrate Polymers*, 67(3): 288-295, 2007.
- VIRTO, R. et al. Inactivation kinetics of *Yersinia enterocolitica* by citric and lactic acid at different temperatures. *International Journal of Food Microbiology*, 103(3): 251-257, 2005.