

Calidad microbiológica del pan de caja adicionadas con harinas no convencionales (jamaica y nopal).

González-Montiel L.^a, Altamirano-Fortoul R. C.^a, Campos-Pastelin J. M.^{a*}

a Universidad de la Cañada, Instituto de Farmacobiología, Carretera Teotitlán-San Antonio Nanahuatipan Km 1.7 s/n, Paraje Titlacuatitla, C.P. 68540, Teotitlán de Flores Magón, Oaxaca, México. *campos@unca.edu.mx

RESUMEN:

Los productos de panadería han jugado un papel importante a través de la historia. Hoy en día, estas mejoras incluyen la reducción de calorías, así como aumento de contenido de fibra y proteína y además un efecto en la vida de anaquel del producto, que se obtiene mediante la sustitución parcial de harinas no convencionales. Por lo tanto, en el presente estudio evaluó la calidad microbiológica del pan de caja adicionadas con harinas no convencionales. Para esto, se desarrollaron dos formulaciones de pan de caja utilizando harina de nopal y harina de jamaica, en concentraciones de 3% y un control. Se estudió el tiempo de almacenamiento (0, 2, 4, 6 y 8 días) en relación a la calidad microbiológica. Para ello se evaluó la presencia de mesófilos aerobios, coliformes totales y hongo y levadura. Se demostró que, sin agregar conservadores artificiales el pan con sustitución parcial de 3% de harina de nopal duró 5 días y la formulación de jamaica hasta 7 días sin mostrar cambios aparentes en la superficie de ésta, a diferencia del pan control..

Palabras clave:

Harinas no convencionales, jamaica, nopal, pan de caja.

ABSTRACT:

Bakery products have played an important role throughout history. Today, these improvements include calorie reduction, as well as increased fiber and protein content and also an effect on shelf life of the product, which is obtained by partial substitution of unconventional flour. Therefore, in the present study the microbiological quality of the box bread added with unconventional flours was evaluated. For this, two loaf of bread formulations were developed using tender cactus flour and hibiscus flour, in concentrations of 3% and a control. The storage time (0, 2, 4, 6 and 8 days) was studied in relation to the microbiological quality. To this end, the presence of aerobic mesophiles, total coliforms and fungus and yeast was evaluated. It was demonstrated that, without adding artificial preservatives, the bread with partial substitution of 3% tender cactus flour lasted 5 days and the formulation of hibiscus up to 7 days without showing apparent changes in the surface thereof, unlike the control bread..

Key words:

Unconventional flour, hibiscus, tender cactus, bread loaf.

Área: Desarrollo de nuevos productos.

INTRODUCCIÓN

Los productos de trigo han sido parte de la dieta desde muchos siglos atrás. La harina de trigo es la más utilizada en panificación, el pan ha representado un papel esencial a lo largo de la historia ya que constituye una de las principales fuentes de alimentación (Serna, 2005). El trigo es el único cereal que proporciona dichas características debido a que contiene las proteínas requeridas para formar gluten con las características necesarias para la elaboración de pan con calidad (Dendy & Dobvaszcyk, 2004). Sin embargo, la vida de anaquel de un producto de panificación es corta cuando no son agregados conservadores.

Una alternativa sería el uso de harinas no convenciones que además de proveer un excelente beneficio nutricional, ofrezca un efecto inhibición a los microorganismos que causan un deterioro a la calidad del pan. La composición básica del pan lo hace un producto apropiado para el crecimiento de microorganismos, los cuales, invariablemente necesitan de tres condiciones para su desarrollo: alimento, calor y humedad. Los principales factores que afectan el crecimiento de microorganismos son: disponibilidad de nutrientes, temperaturas de almacenamiento, acidez, actividad de agua y las buenas prácticas de manufactura. El pan recién salido del horno se encuentra libre de microorganismos y esporas; sin embargo, durante el enfriamiento, manipulación y almacenamiento es posible que

se contamine y en los días posteriores presente daños por causa de microorganismos, los principales problemas asociados a microorganismos que presentan el pan son dos: enmohecimiento e “hilado” o “pan filamentosos”. De acuerdo a Frazier & Westhoff (2003), en los productos de panificación los mohos son los principales responsables del daño causado por la acción de los microorganismos, siendo los de mayor interés *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus niger*, *Penicillium*, *Monilia sitophila* y *Mucor*.

La jamaica pertenece a la familia de las malváceas y su nombre científico es *Hibiscus sabdariffa* L., es originaria de África tropical, su cultivo se ha extendido en México, América Central y del Sur y sudeste asiático (Morton, 1987). México ocupa el séptimo lugar como productor y es considerado como cultivo no tradicional. Las principales identidades productoras son Guerrero y Oaxaca con un porcentaje de producción nacional de 77.52 y 12.61% respectivamente (SAGARPA, 2012). En México se encuentran diferentes variedades de jamaica en la que podemos resaltar: Yerzi o Jerzey, Sudan, Colima 3, Colima 5, Colima 7, Criolla y Alma Blanca, esta última, es un producto de la mutación natural de la criolla regional, a la cual se sometió durante cinco años a selección masal para mayor uniformidad; las corolas son de color amarillo claro o crema con centro amarillo, los cálices tiernos son de color verde claro, se vuelven de color crema al madurar y secos de color paja (Ovando, 2013). Numerosas investigaciones de *H. sabdariffa* L. le han atribuido propiedades antipiréticas (Reanmongkol & Itharat, 2007), antibacterianas (Castillo *et al.*, 2009; Yin & Chao, 2008), diuréticas (Márquez *et al.*, 2007), entre otras; las cuales se le han asociado a la presencia de moléculas con actividad antioxidantes tales como: polifenoles, quercetina, ácido ascórbico y antocianinas (Sumaya *et al.*, 2013). Por otra parte, hay evidencia que el extracto de hojas secas y harina de cáliz de *H. sabdariffa* reducen la formación de aflatoxina (Al-Shayeb & Mabrook, 1984; Saifeldin *et al.*, 2011) e inhibe el crecimiento de *Aspergillus fumigatus*, *Rhizopus stolonifer* y *Trichophyton mentagrophyte* (Guerin & Reveillere, 1984).

El nopal es una planta de la familia Cactaceae de los géneros *Opuntia* y *Nopalea* que se produce principalmente en zonas templadas y tropicales secas (Sánchez, 2006). En México el consumo de variedades silvestres de nopal se realiza desde hace aproximadamente 2500 años, su uso como alimento se ha difundido en África y Oceanía (Castillo *et al.*, 2013). La utilización del nopal fresco se ve condicionada por su corta vida útil y su empleo se limita a la época de producción del cultivo. Una posibilidad de uso es la deshidratación y molienda de los cladodios, que resulta tecnológicamente factible, ya que permite obtener harina de buena calidad nutricional, para su empleo en la formulación de alimentos (Castillo *et al.*, 2013). La harina de nopal es considerada un ingrediente no tradicional que permite incorporar fibra alimentaria en productos alimenticios tales como productos de panificación.

Por todo lo anterior, el objetivo de este proyecto fue evaluar la calidad microbiológica con la elaboración de pan de caja sustituyendo un porcentaje de la harina de trigo por harina de nopal y harina de jamaica. Esto se hizo a partir de una mezcla de harina de trigo con harina de jamaica (var. Alma Blanca) (formulación 1) en concentraciones de 3% y otra mezcla de harina de trigo con harina de nopal (*Opuntia nopalea* L.) (formulación 2) en las mismas concentraciones, así como determinar el efecto microbiológico de los panes de caja de las formulaciones de mayor preferencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Elaboración de las formulaciones

El pan, fue elaborado utilizando un proceso directo de acuerdo a Angioloni & Collar (2009), se usó una formulación básica para pan de caja. A la cual se le sustituyó un porcentaje de la harina de trigo por las harinas de nopal y jamaica en dos formulaciones, una de harinas de trigo-jamaica (formulación 1) y otra de harinas de trigo-nopal (formulación 2), en concentración de 3% y un pan sin adición de harina no convencionales (control) (Almana, 2001; Sandoval *et al.*, 2008; Dendy & Dobvaszczyk, 2004), como se muestra en la Tabla I. Durante la elaboración de los panes se mantuvieron constantes los porcentajes de los ingredientes (sal, levadura, azúcar, leche, huevo, manteca vegetal y mejorado panario).

Tabla I. Formulaciones de pan de caja adicionado con harina de jamaica y nopal.

Ingredientes (%)	Formulación (1)	Formulación (2)	Control
Harina de trigo	43.4	43.4	48.2

Harina de jamaica	4.8	-	-
Harina de nopal	-	4.8	-
Levadura	2.4	2.4	2.4
Azúcar	5.2	5.2	5.2
Leche	28.7	28.7	28.7
Mejorador	1.8	1.8	1.8
Grasa vegetal	3.4	3.4	3.4
Sal	0.6	0.6	0.6
Agua	3.4	3.4	3.4
Huevo	6.3	6.3	6.3

Los porcentajes de las harinas se sacaron en base al total de la harina a utilizar y posteriormente al total de los ingredientes.

Elaboración de pan de caja

El pan se elaboró utilizando un método directo, empleando los ingredientes en las concentraciones descritas en las formulaciones. Todos los ingredientes fueron mezclados y amasados en una batidora (Modelo KP26M1XWH, Marca Kitchen Aid) a velocidad media, formando una masa, la cual se boleó y moldeó, para luego poner a fermentar en una estufa (Modelo RF53UL, Marca Binder) durante 30 minutos a 35°C, una vez fermentada la masa, se coció en un horno (Marca La Tahona) a 225°C durante 25min. Finalmente, el pan recién horneado se dejó enfriar a temperatura ambiente durante una hora (Angioloni & Collar, 2009).

Análisis microbiológico de las formulaciones

Preparación de la muestra y realización de las diluciones.

Para el análisis de la muestra se tomó una barra de pan de cada una de las formulaciones (trigo-jamaica, trigo-nopal y un control), la cual se dividió en 8 rebanadas y se almacenaron en un lugar seco por 8 días en bolsas Ziploc individuales para tomar una muestra aleatoria los días 0, 2, 4, 6 y 8, posteriormente se hicieron determinaciones por duplicado de recuento total de coliformes, cuantificación de bacterias mesófilas aerobias y determinación de mohos y levaduras. La preparación y dilución de las muestras, se llevó a cabo mediante la NOM-110-SSA1-1994. Se hicieron dos diluciones de acuerdo al tiempo de almacenamiento donde se tomó 10g de pan y se mezcló con 90ml de agua peptonada en un homogeneizador stomacher (Modelo M-S36, Marca R4SYSTEM) para la dilución 10^{-1} , se tomó 1ml de la dilución y se mezcló con 9ml de agua peptonada en un tubo de ensaye para la dilución 10^{-2} y así sucesivamente para alcanzarla dilución deseada.

Recuento total de coliformes

Se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por la NOM-113-SSA1-1994, se utilizó Agar Rojo Violeta Bilis Lactosa (DIBICO, Dibico S.A de C. V, México), que se disolvió en agua destilada, posteriormente se esterilizó a 121°C durante 15 minutos en un autoclave (Marca Presto). La determinación se llevó a cabo por triplicado de cada dilución transfiriendo 1ml de la dilución a una caja de Petri estéril desechable y añadiendo de 10 - 15ml de medio de cultivo a 40 – 45°C, se homogenizaron las cajas con movimientos orbitales y se dejó solidificar para agregar una segunda capa de 5 - 10mL del medio de cultivo, posteriormente se incubó a $37 \pm 2^\circ\text{C}$, durante 24 horas en una incubadora (Modelo IB-ISG, Marca Jelotech), la cuantificación se llevó a cabo contando el número de unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g).

Cuantificación de mesófilos aerobios.

Se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta por la NOM-092-SSA1-1994, utilizando Agar Métodos Estándar (BD Bioxon, Becton Dickinson de México S.A de C.V), el cual se disolvió en agua destilada, posteriormente se esterilizó a 121°C durante 15min., en autoclave (Marca Presto). La determinación se llevó a cabo por triplicado de cada dilución. Se transfirió 1ml de la dilución a una caja de Petri estéril desechable (100mm x 15mm) y se añadió de 15 - 20ml de medio de cultivo a 40 – 45°C, se homogenizaron las cajas con movimientos

orbitales, se dejó solidificar para su incubación a $37 \pm 2^\circ\text{C}$, durante 48 horas en una incubadora (Modelo IB-ISG, Marca Jelotech), la cuantificación se realizó contando el número de unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g).

d) Cuantificación de mohos y levaduras.

Se determinó de acuerdo a la metodología establecida en la NOM-111-SSA1-1994. Para este método se utilizó Agar Dextrosa y Papa (DIBICO, Dibico S.A de C. V, México), el cual fue diluido en agua destilada, posteriormente se esterilizó a 121°C durante 15min (Marca Presto). La determinación se llevó a cabo por triplicado de cada disolución. Transfiriendo 1ml de la dilución a una caja de Petri estéril desechable y añadiendo de 15 a 20ml, de medio de cultivo a $40 - 45^\circ\text{C}$, el cual se acidificó con ácido tartárico al 10% (m/v), usando 1.5ml por cada 100ml de medio de cultivo, se homogenizaron las muestras, se dejó solidificar y se incubaron a 22°C durante 5 días en una incubadora orbital (Modelo 650V-7, Marca S.E.V.). La cuantificación se llevó a cabo contando el número de unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/g).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El pan después del horneado es estéril, y durante el enfriamiento, la manipulación y almacenamiento se vuelve un medio apropiado para el crecimiento de microorganismos a los pocos días de su elaboración. En la Fig. 1 se muestran los resultados en los cuales los tres panes cumplen con las especificaciones de la norma NMX-F-159-S-1983 al día 0. Durante el monitoreo se observó que en los tres panes no hubo crecimiento de coliformes. En cuanto a los resultados del pan de trigo (Control) se observó que tuvo crecimiento de mesofilos aerobios a partir del segundo día de monitoreo y a partir del sexto día presentó crecimiento de hongos y levaduras; además, se hizo visible la presencia de hongos en la rebanada de pan de caja (Fig. 2), esto debido a los cambios en la actividad de agua durante el almacenamiento (0.94 a 0.97) esto concuerda con lo reportado por ICMSF (1998) el pan con una actividad mayor a 0.95 se vuelve un medio ideal para el crecimiento de hongos.

Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

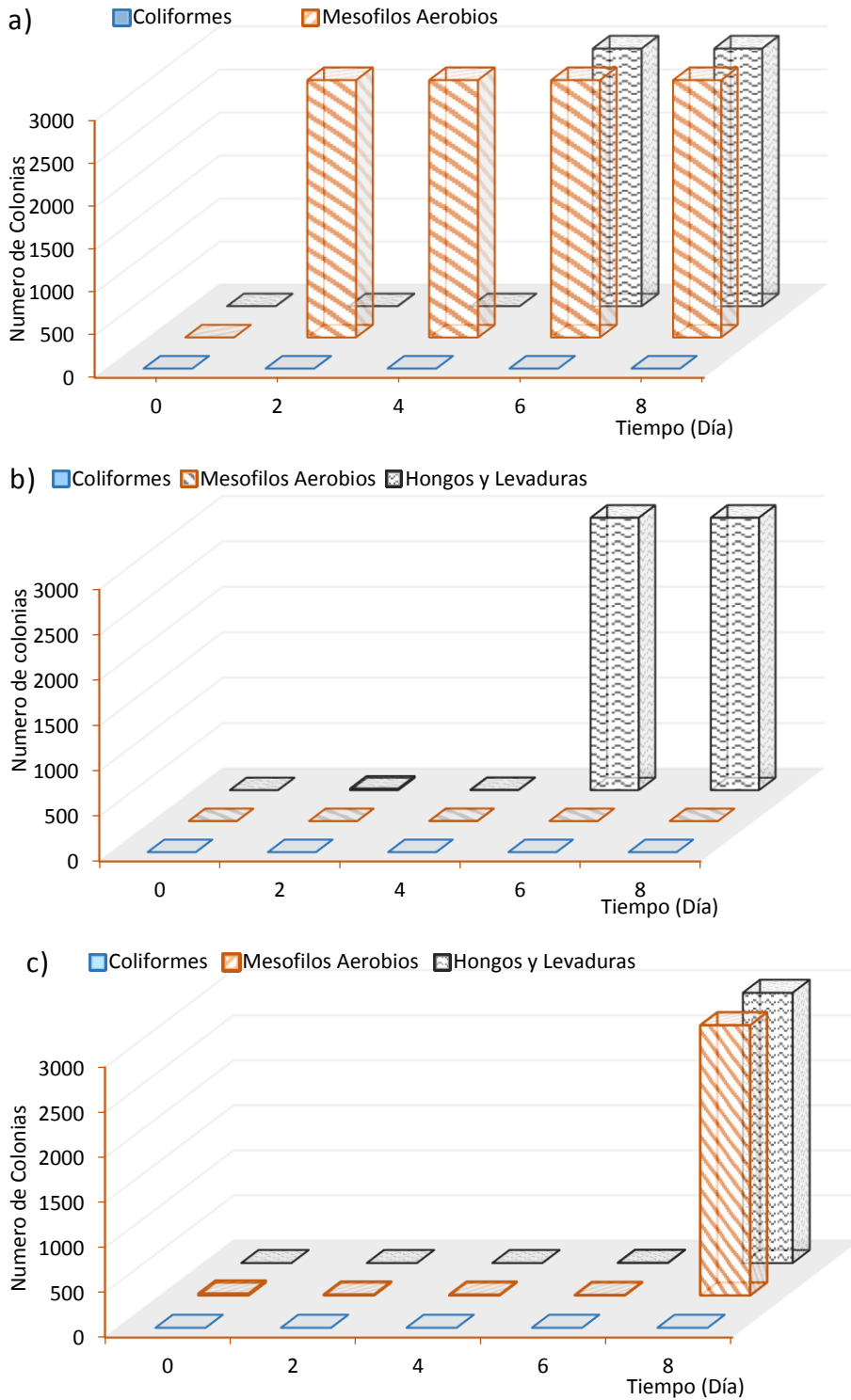


Figura 1. Microbiota presente en los panes monitoreados; a) Trigo, b) Trigo/Nopal y c) Trigo/Jamaica

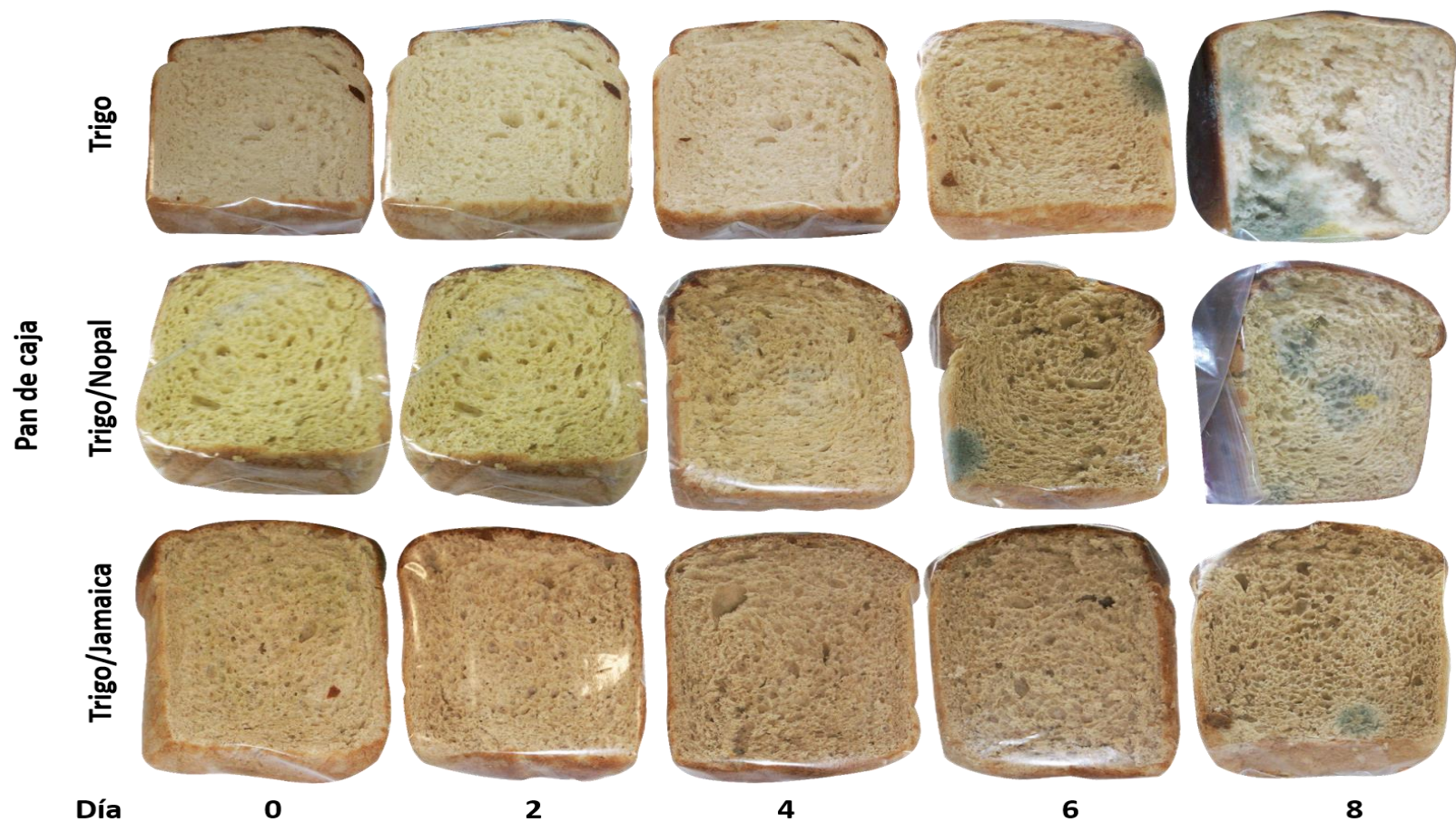


Figura 2. Gráfico de alteración por hongos de los panes (de trigo/jamaica y trigo/nopal y control) durante su tiempo de almacenamiento.

En el caso del pan de nopal, no hubo crecimiento de mesofilos aerobios, esto pudiera deberse a que el nopal tiene efecto antibacteriano (Háuad, 2010), no obstante, se observó que a partir del sexto día presentó crecimiento de hongos y levaduras, asimismo se hizo visible la presencia de hongos en la rebanada de pan de caja (Fig. 2). Por otro lado, el pan de jamaica fue el que se conservó en buen estado por más tiempo, a diferencia de la formulación de trigo y nopal. En cuanto a mesofilos aerobios fue menor que el de trigo y a partir del octavo día presentó crecimiento de hongos y levaduras; además, se hizo visible la presencia de hongos en la rebanada de pan de caja (Fig. 2), esto pudiera ser debido: primero; a que la actividad de agua del pan de jamaica fue menor en los primeros 5 días en comparación de los panes de trigo y nopal y segundo; a que la harina de jamaica posiblemente tuvo un efecto sobre el crecimiento de hongos, ya que Guerin & Reveillere, 1984 reportaron que el extracto de hojas secas y harina de cáliz de *H. sabdariffa* inhibe el crecimiento de *Aspergillus fumigatus*, *Rhizopus stolonifer* y *Trichophyton mentagrophyte*.

CONCLUSIÓN

La incorporación del 3% de harinas no convencionales (jamaica y nopal) presentó un efecto positivo con la inhibición del crecimiento microbiano. La formulación trigo-nopal (formulación 2) tuvo un fuerte efecto contra la formación de colonias bacterianas durante los 8 días almacenamiento. La formulación jamaica-nopal (formulación 1) ejerce un ligero efecto sobre el crecimiento de bacterias en caso contrario ocurre con el crecimiento de hongos filamentosos.

BIBLIOGRAFÍA

- Almana, H. A. (2001). Karkade (*Hibiscus sabdariffa*) as a mineral and fiber supplement in chocolate cakes. Department Of Food Science and Nutrition, College Of Agriculture, King Sand University, Saud Arabia, 9(1), 283-395.
- Al-Shayeb, N. M. & Mabrook, S. S. (1984). Utilization of some edible and medical plants to inhibit aflatoxin formation. Nutrition Report International, 29, 273-282.
- Angioloni, A & Collar, C. (2009). Small and Large deformation viscoelastic behavior of selected fiber blends with gelling properties. Food Hydrocolloids, 23, 742-748.
- Castillo, J. I., González, V., Jaime, A. H., Martínez, G., Linares, E., Bye, R. & Romero, I. (2009). Anti-Helicobacter pylori activity of plants used in Mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders. Journal of ethnopharmacology, 122(2), 402-405.
- Castillo, S. F., Estrada, L., Margale, M. I. & Tóffoli, S. L. (2013). Obtención de harina de nopal y formulación de alfajores de alto contenido en fibra. Universidad Nacional de Salta. Facultad de Ciencias de la Salud. Scientific Electronic Library Online, 31(142), 20-26.
- Dendy, D. A. V. y Dobvaszcyk, B. J. (2004). Cereales y productos derivados química y tecnología. Editorial Acibia. Zaragoza España. 537
- Frazier, W.C. & Westhoff, D. C. (2003). Microbiología de los alimentos. 2a Ed., Zaragoza España. Editorial Acibia. 371-400.
- Guerin, J. C., & Reveillere, H. P. (1984). Antifungal activity of plant extracts used in therapy. Study of 41 plants extracts against 9 fungal species. Annals Pharmaceutiques Francaises, 42, 553-559.
- Háuad, M. L. A. (2010). Utilización del nopal y otras cactáceas en la elaboración de fitofármacos y su importancia en salud. VIII Simposium-Taller Nacional y 1er Internacional Producción y Aprovechamiento del Nopal". Revista Salud Pública y Nutrición.5.
- ICMSF (1998). Microorganismos de los Alimentos. Ecología microbiana de los productos alimentarios 6. Editorial Acibia. Zaragoza España. 593.
- Márquez, V. R., De la Rosa, C., Rivero, C. & Medina, M. (2007). Actividad diurética del extracto total acuoso de los cáliz de *Hibiscus sabdariffa* L. administrado en ratas albinas variedad Wistar. Scientia et technica, (33), 377-381.

- Morton, J. F. (1987). Roselle. *Hibiscus sabdariffa* L. In Fruits of Warm Climates. 281–286.
- NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Norma oficial mexicana.
- NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Norma Oficial Mexicana.
- NOM-111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Norma oficial mexicana.
- NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Norma oficial mexicana
- Ovando, C. M. E. (2013). Paquete tecnológico para la producción de jamaica en la costa de Oaxaca. SAGARPA. Revista AGROproduce, 2,10-13.
- Reanmongkol, W. & Itharat, A. (2007). Antipyretic activity of the extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces in experimental animals. Journal Science Technology, 29(1), 29–38
- SAGARPA (2012). Anuario Estadístico. 2009S. Del Sitio web: www.sgarpa.gob.mx
- Saifeldin, A. F. El-Nagerabi, A., Saif, N., Al-Bahry, B., Abdulkadir, E., Elshafie, B. & Saud, A. (2011). Effect of *Hibiscus sabdariffa* extract and *Nigella sativa* oil on the growth and aflatoxin B1 production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* strains. Department of Biological Sciences and Chemistry, College of Arts and Sciences, University of Nizwa. Control Food Journal. 59-63.
- Sánchez, B. G. (2006). Al nopal no sólo hay que verlo cuando tiene tunas. Cuadernos de Nutrición, 29(2), 62-65.
- Sandoval, I. A., Navarro, C. A. R., Ávila, S. S. R., Lascano, H. M. & Dávila, M. R. M. (2008). Elaboración de un producto de panificación utilizando harina de nopal viejo o pie de cría. Tesis de grado, del Departamento de Bioquímica-Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Serna, S. (2005). Química, almacenamiento e industrialización de cereales. 2a Ed., México, D.F.: AGT Ediciones.
- Sumaya, M. M. T., Medina, C. R. E., Machuca, S. M. L., Balois, M. R. & Sánchez, H. L. M. (2013). Potencial de la Jamaica (*Hibiscus sadariffa* L.) en la elaboración de alimentos funcionales con actividad antioxidante. Revista Fuente, (13), 27-33.
- Yin, M. y Chao, C. (2008). Anti-Campylobacter, anti-aerobic, and anti-oxidative effects of roselle calyx. US National Library of Medicine National Institutes of Health.