

Efecto de aceites esenciales utilizados como antimicrobianos en la calidad de productos de panificación.

L.G. Pérez Trujillo, D.G. Meza-Hernández, E.E. Lozano Bernal, C. T. Gallardo-Rivera*, J.G. Báez-González, K. G. García-Alanís, E. García Márquez, S.L. Castillo Hernández.

Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Ciencias de alimentos, Universidad Autónoma de Nuevo León. gallardoclaudiary@unal.edu.mx

RESUMEN:

El uso de aceite esencial en productos de panificación se debe principalmente a su acción antimicrobiana, no obstante pueden impartir sabor y aroma característicos. Se ha reportado, que aceites esenciales extraídos de canela, orégano y cítricos pueden inhibir microorganismos como bacterias (*B. subtilis*, *B. cereus*) hongos (*Aspergillus*, *Penicillium*) y levaduras (*S. marcescens*, *P. burtonii*). En este trabajo, se realizó un análisis en pan tipo Muffin horneado (180 a 230°C durante 45 a 60 minutos) y pan cocido en microondas (50 a 60 seg con potencia de 627 Watts), elaborado a partir de espumas formuladas con bajo contenido de azúcar (8-9%) y grasa (7-8%). Se determinó la influencia de la formulación, proceso de cocción y contenido de aceite esencial en la calidad fisicoquímica (% w/w humedad, a_w), tamaño de la miga y vida de anaquel (11 y 25 días). Los resultados del estudio indican que el producto cocido en microonda es más estable (0.89 a_w , 23% humedad). El tamaño de la miga disminuye (47 a 35 μm) así como la altura del muffin (5%) almacenado a temperatura ambiente. Cuando se utiliza 0.3% de aceite esencial de cítricos (toronja) es posible duplicar el tiempo de conservación característico de productos elaborados en panificadoras caseras..

Palabras clave: Pan, Aceite esencial, Espuma, Microondas, Horno, antimicrobiano

ABSTRACT

The use of essential oil in bakery products is mainly due to its antimicrobial action, however they can impart characteristic flavor and aroma. It has been reported that essential oils extracted from cinnamon, oregano and citrus can inhibit microorganisms such as bacteria (*B. subtilis*, *B. cereus*) fungi (*Aspergillus*, *Penicillium*) and yeast (*S. marcescens*, *P. burtonii*). In this work, an analysis was carried out on baked bread type (180 to 230 ° C for 45 to 60 minutes) and bread cooked in microwaves (50 to 60 seconds with power of 627 Watts), elaborated from foams formulated with low content of sugar (8-9%) and fat (7-8%). The influence of the formulation, cooking process and essential oil content on physicochemical quality (% w/w moisture, a_w), crumb size and shelf life (11 and 25 days) was determined. The results of the study indicate that the product cooked in microwave is more stable (0.89 a_w , 23% humidity). The size of the crumb decreases (41 to 35 μm) as well as the height of the muffin (5%) stored at room temperature. When using 0.3% citrus essential oil (grapefruit) it is possible to double the shelf life characteristic of products made in homemade bread makers..

Key word: Bread, Essential oil, Foam, Microwave, Oven, antimicrobial

Área: Desarrollo de nuevos productos.

INTRODUCCIÓN

Los productos de panificación usualmente son formulados con una proporción de ingredientes elevada respecto al contenido de lípidos ó azúcar, también contienen conservadores sintéticos tales como ácido sórbico, sorbato de potasio, benzoatos y propionato de calcio. El proceso de elaboración del pan cocido en horno consta de las siguientes etapas: formulación, pesado de los ingredientes, mezclado, cocción, enfriamiento, empaçado y almacenado. En el caso de productos elaborados a base de espumas, la formulación contiene una proporción de sólidos menor al 50% w/w, posterior al mezclado se incorpora gas como CO₂ o NO₂, lo que permite duplicar en ocasiones el volumen de la masa. La estabilidad de las espumas se evalúa a través del índice de drenado, aunque otras características importantes son el volumen de expansión y el tamaño de las burbujas, que son parámetros influenciados por el contenido y tipo de ingredientes (lípidos, azúcar, emulsionante) utilizados en los formulados. Las características fisicoquímicas del pan como humedad (22 –38%w/w), actividad de agua (0.85 a 0.95) y acidez (0.405-0.5%) promueven el desarrollo de microorganismos deteriorativos, mohos y levaduras. Los mohos más comunes son las especies *Aspergillus* y *Penicillium*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Mucor* y *Eurotium*, su presencia en el producto puede observarse en la superficie del pan mediante la aparición de colonias verdes y negras (Sánchez et

al., 2016). Por otra parte, levaduras tales como *S. marcescens*, *E. fibuliger*, *Z. rouxii*, y *P. burtonii* producen alcohol y/o gases, mismas que forman colonias superficiales generalmente de color blanco y rosa (Valerio et al., 2012). Bacterias del género *Bacillus spp.* *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. cereus*, *B. firmus*, *B. pumilus*, *B. clausii* pueden causar olor dulce afrutado, así como una degradación enzimática de la miga, la cual transforma su consistencia y cambia el color (Salgado & Jiménez., 2012). De acuerdo a la NOM-247-SSA1-2008, los microorganismos deteriorativos y patógenos comunes en el pan tienen un límite máximo permitido para los mesófilos aerobios de 1000 UFC/g, coliformes totales 20 UFC/g y *S. aureus* 100 UFC/g. Diversos estudios muestran que la flora microbiana del pan puede ser reducida, inhibida o inactivada debido al tipo de proceso de cocción (Gutiérrez, 2017; Flores, 2017). En el caso de producto horneado la temperatura de cocción se encuentra entre 180 a 230°C y se mantiene de 45 a 60 minutos, mientras que la cocción en microondas de productos elaborados a base de espumas alcanza una temperatura alrededor de 75°C utilizando la potencia de 204.2 watts en un tiempo de 120 segundos (Gadonna & Laguerre, 2017). Adicionalmente, otras investigaciones en pan horneado han mostrado que el uso de antimicrobianos sintéticos fortalece el efecto inhibitorio logrado con la cocción (Layango et al., 2015; Trujillo, 2015). Sin embargo, estos conservadores pueden causar efectos secundarios a largo plazo como alergias, algún grado de toxicidad o desarrollo de cáncer (Rioja, 2016). Debido a lo anterior, la conservación del pan ha sido estudiada a través del uso de antimicrobianos naturales como aceites esenciales, entre los que destacan el tomillo, laurel, orégano, canela, clavo, ajo, hierba de limón, mostaza y naranja debido a su amplio espectro contra microorganismos patógenos y deteriorativos ya que contienen diversos compuestos como el timol, eugenol, aldehídos, cetonas, alcoholes y otros hidrocarburos que poseen una elevada actividad antimicrobiana (Debonne et al., 2018; Rubio, 2017; Sánchez et al., 2016; Trujillo, 2015). Dichos componentes son capaces de ejercer una acción bactericida o bacteriostática en productos de panificación cuando son usados entre una concentración de 0.1-0.5% w/w. Estos antimicrobianos pueden actuar por diversos mecanismos que pueden causar daño a la membrana bacteriana y su eventual desnaturalización (Talavera, 2015; García, 2015). Los aceites esenciales se han incorporado en productos de panificación en etapas como el amasado (micro encapsulado), mezclado, o en producto cocido donde es aplicado en la corteza en forma directa (líquida) o atomizado (spray). El presente trabajo realiza un análisis en productos de panificación (tipo Muffin) cocidos en horno y microondas para determinar la influencia del proceso de cocción y contenido de aceite esencial en la calidad fisicoquímica (% w/w humedad y a_w), tamaño de la miga y vida de anaquel. Considerando la revisión de información correspondiente a pan horneado y pruebas experimentales preliminares realizadas en pan elaborado a base de espumas formuladas con bajo contenido de azúcar y grasa (Flores, 2017).

MATERIALES Y MÉTODOS

El producto formulado tipo muffin contiene como ingredientes harina de trigo (36-37% w/w), agua (20-21% w/w), azúcar (8-9% w/w), huevo (14-15% w/w), vainilla (7-8% w/w), sal (0.3-0.4% w/w), aceite esencial de cítricos (toronja) (0.1-0.3% w/w), aceite de cártamo (7-8% w/w) y emulsificantes (CMC y Goma Xantana) (0.1-0.3% w/w). Los sólidos y líquidos se mezclan por separado. El aceite esencial se adiciona a los ingredientes líquidos y se mezcla manualmente durante 1min. La emulsión es preparada mediante la adición de los sólidos a los líquidos que son mezclados en la primera velocidad con una batidora (OSTERIZER, Mod. 2532-013) durante un tiempo menor a 5 minutos. La espuma se desarrolla debido a la incorporación del CO₂ (8g) a la emulsión (contenida en un sifón) y la agitación manual vigorosa durante 1 minuto. La cocción del pan (por unidad o pares) se realizó utilizando microondas (Everstar mod. P90D23AL-XF) con una potencia 627 Watts durante 50s y 60s a una temperatura aproximada de 70 °C. Posteriormente, el producto es empacado (en pares) a temperatura ambiente utilizando bolsas de celofán. El proceso de elaboración citado se muestra en el Diagrama 1, el cual incluye las etapas relacionadas con el proceso de horneado cuyo producto contiene una cantidad de 24% de azúcar y 16% de grasa (García, 2009; Peralta, 2017).

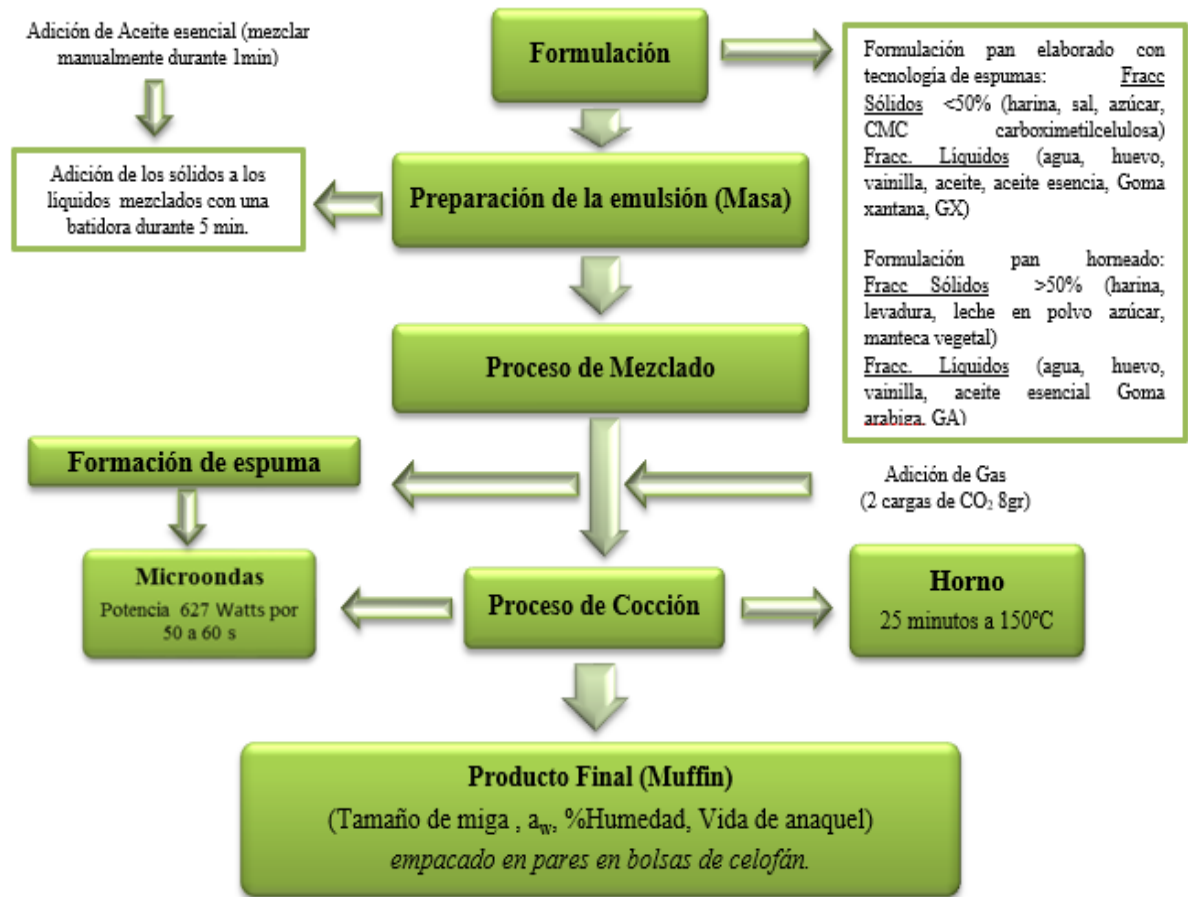


Diagrama 1.- Proceso de Elaboración de Pan tipo muffin formulado con aceite esencial cocido con microonda y horneado (Peralta, 2017).

Calidad del pan cocido con microonda en condiciones de almacenamiento.

Análisis fisicoquímico de pan cocido con microondas durante el almacenamiento.

Se realizaron determinaciones de humedad y actividad de agua (ambas por triplicado) en producto cocido durante los días 1, 3, 5, 7, 9 y 11. La actividad de agua, se midió utilizando el equipo Aqualab 4TE (DECAGÓN DEVICES), previamente calibrado con carbón activado. La muestra de 1 g tiene como dimensiones el diámetro de la celda y un espesor menor a 5mm. Por otra parte, la humedad se determinó en muestras (1g) aplicando el método gravimétrico de acuerdo con la NOM-247-SSA1-2008.

Análisis del tamaño de la miga del pan cocido con microonda almacenado.

Se realizaron cortes transversales de la parte superior (corteza), intermedia e inferior de muffin congelado (1°C por 24 h), correspondiente a cada día del estudio de vida de anaquel. Dichos cortes fueron observados al microscopio (Leica-DM500) con objetivo 4X, en cada uno se calculó el diámetro promedio respecto a una función de distribución de tamaños de miga (datos no incluidos) utilizando el programa LAS-EZ incluido en el software de análisis de imagen (IMAGE-Pro Plus 4.0). Para determinar el valor promedio aritmético del diámetro de la miga (en cada corte) este procedimiento se realizó en 7 panes congelados correspondientes a cada día de estudio de la vida de anaquel.

Análisis cualitativo del producto cocido empacado a temperatura ambiente.

Se analizaron muestras de pan cocido en microonda empacado a temperatura ambiente por pares. En el periodo de vida de anaquel se realizó una revisión visual de cada paquete (por triplicado) para determinar la viabilidad del desarrollo de colonias de hongos y levaduras en la corteza y el fondo (ver Fig. 1). Adicionalmente se identificó la

presencia de estos microorganismos en una muestra control (formulada sin aceite esencial) al término de su vida de anaquel. Para este fin, se utilizó medio de cultivo agar Papa Dextrosa (Bioxon BD) con ácido tartárico al 10% w/v y se aplicó el procedimiento según la NOM-111-SSA1-1994.

Análisis estadístico.

Se realizó un análisis estadístico elemental para obtener el valor medio aritmético y la desviación estándar de los parámetros como humedad, actividad de agua y altura del muffin (por triplicado). El diámetro promedio y desviación estándar de las migas (relacionado con cada corte), se calculó utilizando el software de análisis de imagen IMAGE-Pro Plus 4.0. Adicionalmente se determinó el valor promedio aritmético del diámetro de la miga.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 y 2 muestran las características de calidad de pan horneado PH y cocido en microondas PF durante la vida de anaquel (hasta 25 días). Los resultados en PF indican que el diámetro promedio de miga (47µm) tiene un valor similar a PH (44 µm) al inicio de su almacenamiento, a pesar de que su contenido de sólidos en la formulación es menor al 50% w/w y la cantidad de grasa y azúcar es reducida respecto a PH (Islas & Vera, 2017). Adicionalmente, se observó en PF una reducción del diámetro de la miga de 47 a 35 µm, lo cual es coherente con la disminución de a_w (0.93-0.87) y la reducción de humedad final (23%w/w a 25%w/w) en estos productos. Lo anterior también puede relacionarse con la pérdida de altura del muffin que fue de 5%. Ramírez (2017) sugiere que la disminución de a_w y humedad aumenta la rigidez del pan debido a la retrogradación del almidón durante la vida de anaquel. Esto, también se asocia con el tipo de proceso de cocción (tiempo y temperatura), ya que podría influir en la velocidad de gelificación de la amilosa y la cristalización de las fracciones de amilopectina. Por otro lado, Arce (2017) señala que el tiempo de cocción puede influir en el desarrollo del sabor y dorado de la corteza. En el caso de la cocción en microondas la temperatura que se alcanza en la superficie es baja (< 90°C) y el tiempo de cocción es reducido (30 a 60seg) lo que afecta el desarrollo de la reacción de Maillard (Gutierrez, 2017).

Tabla 1. Características fisicoquímicas de pan cocido en microonda y tamaño de miga

Días	a_w	Humedad (% w/w)	Altura del muffin (mm)	Diámetro promedio de miga (µm) obtenida de cortes en muffin congelado a 0°C		
				Corteza	Centro	Fondo
1	0.9341	30.18	38	51.1182±12.27	49.8853±11.85	41.0606±3.33
3	0.9312	28.15	38	41.7609±10.39	39.1772±7.73	39.2564±10.30
5	0.9290	25.22	36	39.5918±12.06	39.1491±8.89	38.2673±12.99
7	0.8969	24.93	36	38.2079±10.29	39.1341±4.35	35.2014±6.12
9	0.8852	23.80	36	38.1530±10.30	37.2530±5.15	35.1513±7.20
11	0.8793	23.15	35	37.1230±10.25	35.3218±6.12	34.2415±8.15

Se utilizaron muestras por triplicado para determinar humedad y a_w . Los valores del diámetro promedio se obtuvieron de 7 muestras de pan como se explica en la sección correspondiente.

Tabla 2.- Características fisicoquímicas y estabilidad de pan tipo muffin.

		Proceso de cocción	
		Microondas	Horno
Características fisicoquímicas	Aw	0.934 a 0.896	0.941 a 0.918
	Humedad	30-23%	25.97%
Vida de anaquel		11 días	15-21 días

Los datos del producto horneado se obtuvieron de Peralta (2017).

Por otra parte, se realizó un análisis cualitativo de la estabilidad productos cocidos con microondas (empacados y almacenados a temperatura ambiente) formulados con 0.1% w/w y 0.3% w/w de aceite esencial de toronja. Los resultados evidencian que el producto formulado con la menor concentración de este aceite tiene una limitada vida de anaquel (3 días) (datos no incluidos). En contraste, la estabilidad de los productos formulados con 0.3% w/w de aceite esencial, se mantuvo por 10 días. En estos productos, se observó la presencia de colonias de hongos y levaduras (Fig. 1), que se presume pertenecen al género de *Aspergillus* y *Penicillium* debido a su similitud con microorganismos identificados en producto formulado que no contiene el aceite esencial (control). Se destaca que estos resultados se obtuvieron cuando el aceite esencial de cítricos (toronja) se incorpora en la etapa de mezclado. Estudios realizados por Rehman et al. (2007) en pan de trigo dulce, indican que la acción antimicrobiana del aceite esencial de cítricos (limón) es más efectiva cuando se aplica a baja concentración (0.1% w/w) atomizado sobre la corteza lo que extiende la vida de anaquel por 3 días. Rubio (2017) señala que el aceite esencial de canela (0.2% w/w a 0.5% w/w) es adecuado cuando se incorpora durante el proceso de amasado ya que el producto cocido se conserva hasta 17 días en almacenamiento.



Fig.1 Muffin cocido al horno formulado con 0.3% w/w de aceite esencial de cítricos (toronja) correspondiente al día 11 de almacenamiento a temperatura ambiente.

CONCLUSIÓN

El uso de aceites esenciales de cítricos en productos de panificación constituye una alternativa para duplicar el tiempo de conservación de productos tipo muffin comerciales. A pesar de las diferencias en el contenido de sólidos entre los productos horneados y cocidos en microonda, y tipo de aceite esencial, se observa una tendencia semejante en la disminución de humedad, a_w , y tamaño de la miga.

BIBLIOGRAFÍA

- Arce Gutierrez, A. G. (2017). Efecto de la adición de goma xantana, goma guar y tiempo de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas y sensoriales en pan tipo pita integral.
- Axel, C., Zannini, E., & Arendt, E. K. (2017). Mold spoilage of bread and its biopreservation: A review of current strategies for bread shelf life extension. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(16), 3528-3542.
- Darughe F, Barzegar M, Sahari MA. (2012) Antioxidant and antifungal activity of coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil in cake. *International Food Research Journal*; 19(3): 1253–60.
- Debonne, E., Van Bockstaele, F., De Leyn, I., Devlieghere, F., & Eeckhout, M. (2018). Validation of in-vitro antifungal activity of thyme essential oil on *Aspergillus niger* and *Penicillium paneum* through application in par-baked wheat and sourdough bread. *LWT-Food Science and Technology*, 87, 368-378.
- Flores-Tique, Y. (2017). Evaluación del efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) aplicado en el pan molde en microencapsulado y pulverizado. (Tesis de pregrado). Universidad Peruana Unión, Lima.

- Gadonna P., Laguerre, J. (2017). Characterization of Microbial Inactivation by Microwave Heating. In *Global Food Security and Wellness* (pp. 489-517). Springer, New York, NY.
- Gutierrez Balbuena, C. M. (2017). Efecto de la adición de hidrocoloides y tiempo de almacenamiento sobre la humedad, textura y volumen específico del pan tipo frances.
- Islas, J. G., & Vera, N. G. (2017). Efecto del proceso en la elaboración de merengues. *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP*, 3(6).
- Krisch, J., Rentskenhand, T., Horvath, G., Vagvolgyi, C. (2013) Activity of essential oils in vapor phase against bread spoilage fungi. *Acta Biológica Szeged*; 57(1): 9- 12.
- Layango G, HM. Valverde G, KH. Mayaute D, YA. (2015) Evaluación de la goma de tara (*caesalpinia spinosa*) como retenedor de humedad en una premezcla para pan de molde. 1ª Edición. Universidad Nacional del Callao.
- NMX-F-442-1983. Alimentos. Pan-productos de bollería. Food. Bread-bakery products. Normas Mexicanas. Dirección general de normas.
- NORMA Oficial Mexicana. NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba. Disponible en: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5100356&fecha=27/07/2009 [Accesado el día: 16/04/2018]
- Norma Sanitaria para la Fabricación, Elaboración y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería: R.M. N° 1020-2010/MINSA / Ministerio de Salud.
- Peralta, M. B. (2017). *Evaluación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de orégano y canela en el pan integral* (Bachelor's thesis, Quito: Universidad de las Américas).
- Ramírez Piña, K. A. (2017). Comportamiento reológico de masas destinadas para panificación: harina de trigo-almidón nativo de fruta pan.
- Rehman S-U, Hussain S, Nawaz H, Mushtaq AM, Murtaza MA, Rizvi AJ (2007) Inhibitory effect of Citrus peel essential oils on the microbial growth of bread. *Pakistan Journal of Nutrition* 6(6):558–561.
- Rioja-Scott, I. (2016). Informe anual de México, Industria alimenticia. Disponible en www.industriaalimenticia.com (17 Abril 2018).
- Salas Gaona, M., Lara, F., Mendoza, B., Ortega, A., & Carbó, A. (2017). Desarrollo de un pan de dulce enriquecido con harina de germinado de trigo (*Triticum aestivum* an-91-98).
- SALGADO NAVA, A., & JIMENEZ MUNGUÍA, M. (2012). Métodos de control de crecimiento microbiano en el pan. *Temas Selectos Ingeniería De Alimentos*, 2, 160-172.
- Sánchez González, L., Vargas, M., González Martínez, C., Chiralt, A., Cháfer, M., (2016). Use of essential oils in bioactive edible coatings. *Food Engineering reviews*. Vol. 3, Pág: 1
- Talavera, R. M. (2015). *APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTO A BASE DE ANTIMICROBIANOS NATURALES PARA LA MEJORA DE LA CONSERVACIÓN DE PAN* (Doctoral dissertation).
- Teodoro R, de Barros Fernandes R, Botrel D, Borges S, de Souza A. (2014). Characterization of microencapsulated rosemary essential oil and its antimicrobial effect on fresh dough. *Food Bioproc Technol*. 17:2560–2569.
- Trujillo, J. C. (2015). *EVALUACIÓN DE CONSERVADORES NATURALES (Ácido cítrico, vinagre de manzana y aceite esencial de orégano), EN PANES TIPO MUFFINS*.
- Vlerio, F., De Bellis, P., Di Biase, M. (2012) Diversity of spore-forming bacteria and identification of *Bacillus* as a species frequently associated with the ropy spoilage of bread, *International Journal of Food Microbiology* 156(3):278-285.