

Análisis microbiológico de pan tipo baguette a base de harina de trigo y lactosuero con su actividad antioxidante

H.M. Tinoco-Catalán¹, G. Rodríguez-Hernández*.

1 Licenciatura en Ingeniería en Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato Campus Irapuato-Salamanca. Departamento de Alimentos División de Ciencias de la vida, Universidad de Guanajuato Campus Irapuato-Salamanca. hectortinococatalan@gmail.com

RESUMEN

La funcionalidad y fortificación de alimentos es muy importante debido a que la población en estado desnutrición ha incrementado, por los factores climáticos que provocan sequías o malas cosechas y además también por falta de recursos económicos. La adición de proteínas puede ser un problema al momento de formular alimentos, por lo tanto el objetivo de este trabajo fue formular un pan tipo "baguette" a base de lactosuero (de queso tipo Chihuahua) como proteína de alto valor biológico, y a su vez determinar la actividad antioxidante que esté presente a dos diferentes concentraciones de análisis, usando el radical (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) DPPH. Aunado a esto, se realizó un análisis microbiológico basado en cuantificación de mohos y levaduras, coliformes totales y bacterias aerobias. Respecto a los resultados obtenidos en el lactosuero, se presentó actividad antioxidante con las dos concentraciones analizadas que van desde $74.32 \pm 1.25\%$ – $47.04 \pm 2.35\%$ de inhibición del radical DPPH. Del análisis microbiológico en el pan formulado, no fueron detectados presencia en mohos y levaduras, bacterias mesófilas y/o coliformes totales en el alimento.

Palabras clave: Lactosuero, mesófilos, coliformes.

ABSTRACT: The functionality and fortification of food is very important because the population in a state of malnutrition has increased, due to climatic factors that cause droughts or bad harvests and also due to lack of economic resources. The addition of proteins can be a problem when we are formulating new products, therefore the objective of this work was to formulate a "baguette" type bread based on whey (of Chihuahua type cheese) as a source of protein of high biological value, and at the same time determine the antioxidant activity that is present at two different concentrations of analysis, using the radical (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) DPPH. In addition to this, a microbiological analysis was carried out based on the quantification of molds and yeasts, total coliforms and aerobic bacteria. Regarding the results obtained in the whey, antioxidant activity was presented with the two concentrations analyzed ranging from $74.32 \pm 1.25\%$ – $47.04 \pm 2.35\%$ inhibition of the DPPH radical. From the microbiological analysis in the formulated bread, no presence was detected in molds and yeasts, mesophilic bacteria and / or total coliforms in the food.

Keywords: Whey, mesophiles, coliforms.

Área: Alimentos funcionales

INTRODUCCIÓN

El lactosuero o suero de leche es la fase acuosa que se separa de la cuajada en el proceso de elaboración de quesos y contiene la mayor parte de las sustancias solubles, como lactosa, proteínas del suero, sales y algo de grasa (Luquet 1993). Existen varios métodos para determinar la fracción proteica del lactosuero, donde el proceso de separación o concentración de las proteínas afectará definitivamente las propiedades funcionales de los concentrados. Este efecto puede incidir directa o indirectamente sobre su funcionalidad, esto es, que afecte ya sea la conformación o estructura de las proteínas o bien actúe indirectamente sobre la funcionalidad debido a variaciones en la composición (Schimidt, Packard y Morris 1984).

De acuerdo con el PROY-NMX-F-721-COFOCALEC-2012, se calcula que se generan cerca de 9 L de suero por cada kilogramo de queso elaborado. Durante mucho tiempo se ha considerado a este subproducto lácteo como un desecho y se desecha de la forma más económica posible, por ejemplo tirándose al drenaje, y lo cual es una problemática ecológica muy grande debido a que el lacto suero

tiene una demanda bioquímica de oxígeno, de 35-45 kh/Lo también es trabajado como un subproducto de valor bajo, sin embargo, además contiene proteínas de alto valor biológico como las α -lactoalbúminas, β -lactoglobulinas, seroalbúminas e inmunoglobulinas, además de lactaferrina y lactoperoxidasa aunque estas se encuentran en concentraciones menores (Paredes, 2014)

Los problemas de mal nutrición en la población han incrementado debido a que la alimentación que tienen es poco eficiente o en dado caso los alimentos que consumen son e bajo aporte nutritivo, por lo tanto desarrollar un alimento funcional a base de una alta fuente alterna de proteínas es relevante, además de que el contribuye al impacto ambiental que las queserías de la región puedan tener al no tener conocimiento de cómo desechar este subproducto, aunado a esto el lactosuero tiene propiedades antioxidantes que se ha demostrado que dentro de los alimentos, puede ayudar a retrasar el desgaste celular, sin embargo, el lactosuero al tener una alta cantidad de nutrientes se expone a que tenga una vida útil corta en relación a los microorganismos que pueden proliferar rápidamente en este producto, por esta razón también es pertinente realizar un estudio microbiológico sobre los principales agentes deteriorativos que pueden afectar la estabilidad e inocuidad de un alimento.

El objetivo de este trabajo es analizar la formulación realizada de pan tipo “baguette” formulado a base de lactosuero mediante un análisis microbiológico, así mismo medir la actividad antioxidante presente del lactosuero con el que se realizó el pan.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se prepararon los panes basados en la siguiente metodología: Se obtuvo el suero de queso tipo Chihuahua, mismo que fue donado por una quesería y transportado según lo indicado por la NOM-109-SSA1-1994, para ser almacenado en congelación hasta su uso.

Posteriormente, se llevó a cabo una pasteurización del suero a 110°C por 15 minutos en una cantidad de 200 ml, el lactosuero pasó por una segunda pasteurización a la misma temperatura y mismo tiempo que la primera vez. Posteriormente se realiza la mezcla de los ingredientes sólidos, que fueron 250 gr. de harina de trigo refinada, 5 gr de sal, 3 gr. de levadura estándar y en las siguientes etapas: como primer paso se mezcló de levadura con 5 ml de agua purificada, la harina, la sal, se mezclan y al mismo tiempo se le agregó la levadura ya húmeda y el lactosuero, se amasó y dejó reposar la masa en un Fermentador (F) a 37°C para que esta realizará la primera fermentación durante 1 hora, después de este tiempo sacamos del F, se amasó con ligera fuerza por 5 minutos y se metió al F por una hora más, cuando pasó este tiempo se retiró del F y se dividió la masa en 2 partes, dándole forma de “baguette” sobre una charola metálica, se dejó reposar por 45 minutos más dentro del F, se retiró de este y realizó ligeros cortes diagonales superficiales sobre la masa. Se mete al horno precalentado a 150°C y se deja en el proceso de cocción por 40 minutos a 200°C.

Para el análisis microbiológico. - Se utilizó la metodología descrita en la NOM-110-SSA1-1994, Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico. Para preparar y esterilizar el material requerido.

Se realizó la toma y transporte de la muestra(suero) según lo indicado por la NOM-109-SSA1-1994, procedimiento para la toma, manejo y transporte de muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.

Se procedió con las determinaciones, según lo establecido por la NOM-113-SSA1-1994, el método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa; con la NOM-111-SSA1-1994, con el método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos; y con la NOM-092-SSA1-1994, según el método para la cuenta de bacterias mesofílicas aerobias en placa.

Para la actividad Antioxidante. - Se realizaron filtrados para las muestras de lactosuero, según la metodología de Donkor *et al.*, (2007), por triplicado se colocaron en vasos de precipitado 5 ml de suero más 10 ml de ácido tricloroacético al 0.75% para filtrar (Whatman no.1) por 15 minutos recolectando el filtrado en tubos “eppendorf” y congelando las muestras por triplicado a -20°C.

La actividad antioxidante se evaluó por medio de la técnica espectrofotométrica descrita por Pritchard *et al.*, (2010), la cual determina actividades de captura del radical DPPH en presencia de una sustancia

antioxidante midiendo el potencial de inactivación de dicho radical en medio acuoso. Para lo cual, se probarán dos concentraciones del radical libre DPPH en etanol.

Concentración 1(0.04µM):750µL de los FQ + 800µl del reactivo + 450 µL de agua grado HPLC

Concentración 2(0.06µM): 750µL de los FQ + 1200µL del reactivo + 50µL de agua grado HPLC

Cada uno de los cuales se centrifugaron a 9470 g por dos minutos y se usaron como control agua grado HPLC disuelta con DPPH. Posteriormente se midió la absorbancia a 517 nm. Determinándose por diferencia con el control los porcentajes de actividad antioxidante. El porcentaje de inhibición se calculó con la ecuación:

$$\text{Ecuación: \% de inhibición} = (\text{Acontrol} - \text{Aextracto} / \text{Acontrol}) * 100$$

Donde:Acontrol= Absorbancia del control a 517nm,Aextracto= Absorbancia del extracto a 517 nm

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis microbiológico. -En los resultados del análisis del producto no se detectaron presencia de mohos y levaduras (MyL), coliformes totales (CT), o bacterias mesofílicas aerobias en comparación a con la normatividad mexicana correspondiente a pan y productos hechos a base de trigo (NMX-F-442-1983, 1983), se cumple con los criterios establecidos por la misma, como se muestra en la Tabla I.

Tabla I. Resultados del Análisis Microbiológicos del pan formulado a base de lactosuero.			
Determinación	Método Usado	Valores Encontrados	Valores de Referencia NMX-F-442-1983 (Bollería)
Mohos y Levaduras	NOM-110-SSA1-1994 NOM-113-SSA1-1994	Ausencia	50 col/g
Coliformes Totales	NOM-110-SSA1-1994 NOM-111-SSA1-1994	Ausencia	10 col/g
Mesófilos Aerobios	NOM-110-SSA1-1994 NOM-092-SSA1-1994	Ausencia	Ausencia

col/g: Unidades formadoras de colonias por gramo de pan.

Comparando estos resultados con trabajos previos realizados (San Lucas, 2010) se observó que en el análisis microbiológico del pan formulado tampoco obtuvieron presencia de MyL, y CT, esto pudo influir en que utilizaron natamicina como conservador. Sin embargo, en la presente formulación no fueron utilizados conservadores, esto afecta directamente la vida de anaquel que el producto tendrá, por lo que es relevante para estudios posteriores continuar analizando la formulación y hacer pruebas para escoger un conservador adecuado de acuerdo a la NOM-147-SSA1-1996.

Determinación de actividad antioxidante. El análisis de actividad antioxidante se realizó a una longitud de onda equivalente a 517nm, las mediciones se realizaron por triplicado, lo cual dio como resultado el porcentaje de inhibición de la lectura, los cuales son reportados en la Tabla II. Como se puede observar en los resultados indican que existe una diferencia significativa en cuanto a las concentraciones a las que se realizaron las lecturas ($p < 0.05$), como se puede observar la concentración que obtuvo mayor porcentaje de inhibición fue la que tenía un radical DPPH de (0.06µM) con un valor igual a $74.31 \pm 1.25\%$, mientras que la concentración con el radical menor (0.04 µM) obtuvo un valor igual a $46.82 \pm 2.40\%$, esto considerando que el análisis se realizó de la misma muestra de lactosuero que se utilizó de igual forma para la preparación del pan.

Tabla II. Porcentajes de inhibición del radical DPPH en filtrados de lactosuero.

Pan formulado	% de inhibición radical DPPH (0.04µM)	% de inhibición radical DPPH (0.06µM)
1	46.82 ± 2.40% ^A	74.31 ± 1.25% ^B
^A y ^B Literales diferentes en una misma columna indican diferencias significativas en las concentraciones (p<0.05)		

BIBLIOGRAFÍA

- Norma Mexicana NMX-F-442-1983. Alimentos. Pan-Productos de bollería
- Norma Mexicana NMX-F-516-1992. Alimentos, productos de panificación, clasificación y definiciones.
- Paredes Montoya, 2014, Características fisicoquímicas y microbiológicas de suero de leche de queso Chihuahua, Investigación y Ciencia e la Universidad Autónoma de Aguascalientes, vol.22, p 11-16.
- Brito Hannibal, 2015, Aprovechamiento del suero de leche como bebida energizante para minimizar el impacto ambiental, EuropeanScientificJournal, vol.11, p. 26-38
- Vivas R, 2017, Aprovechamiento de lactosuero para el desarrollo de una bebida refrescante con antioxidantes naturales, Alimentos Hoy, Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos, vol.45, p. 106-121.
- San Lucas, 2010, Uso de Natamicina en Pan de Molde Sin Corteza para Aumentar el Tiempo de Vida Útil, Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- Donkor, O. N., A. Henriksson, T. K. Singh, T. Vasiljevic y N. P. Shah. 2007. ACE-inhibitory activity of probiotic yoghurt. Int. Dairy J. 17:1321–1331.
- Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta microorganismos coliformes totales en placa
- Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
- Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de Bacterias aerobias en placa.
- Norma Oficial Mexicana NOM-147-SSA1-1996, Bienes y servicios. Cereales y sus Productos. Harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de cereales, de semillas comestibles, harinas sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de Panificación.
- Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-2009. Bienes y servicios. Procedimiento para la Toma, Manejo y Transporte de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.
- Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-2009. Bienes y servicios. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.
- Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-2009. Bienes y servicios. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.