

Evaluación de la estabilidad microbiológica del pan de molde integral mediante el uso de natamicina

Evaluation of the microbiological stability of whole-wheat sandwich bread by the use of natamycin

Claudia Damaris Meza Velázquez¹ , Liz Ríos Duarte² 

¹ Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Ciencia y Tecnología de Alimentos. San Lorenzo, Paraguay.

² Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Tecnología de Alimentos. San Lorenzo, Paraguay.

Autor de correspondencia: claumezave@gmail.com

Resumen: En los últimos años existe un interés creciente por ingerir alimentos naturales, es decir, que sean mínimamente procesados. La bioconservación satisface estos requisitos, ya que aprovecha la capacidad de microorganismos reconocidos como seguros (GRAS) y/o de sus metabolitos para inhibir el desarrollo de microorganismos alterantes o patógenos en alimentos. En el sector panadero el principal inconveniente es la conservación del pan luego del horneado, ya que por la composición y la temperatura de almacenamiento son muy propensos al ataque por hongos. La finalidad de la presente investigación fue evaluar la estabilidad microbiológica del pan de molde integral aplicando por aspersión, soluciones de natamicina con diferentes concentraciones de alcohol en la superficie del panificado a 65°C y 30°C. El estudio implicó análisis microbiológicos de mohos y levaduras, determinaciones de humedad y una evaluación sensorial mediante una prueba triangular, con 24 jueces semi entrenados. Se siguieron las metodologías descritas en los métodos de la AOAC e ISO. El análisis de humedad y el recuento de mohos y levaduras muestran que no existen diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos. En cuanto al análisis sensorial se evidencia que no existen diferencias significativas en el sabor. Estos resultados demuestran que el pan de molde integral mantiene su estabilidad microbiológica durante los 18 días de estudio siendo el uso del bioconservante una respuesta para los consumidores que continuamente buscan productos más frescos y con menor cantidad de aditivos químicos.



Palabras clave: bioconservación, estabilidad microbiológica, natamicina, panificados.

Abstract: In recent years there is a growing interest in consume natural food, that is, that they be minimally processed. Bioconservation satisfies these requirements since it take advantages of the capacity of microorganisms recognized as safe (GRAS) and their metabolites to inhibit the development of altering microorganisms or pathogens in food. In the bakery sector, the main drawback is the preservation of bread after baking, since the composition and storage temperature are very prone to be attacked by fungi. The purpose of the present investigation was to evaluate the microbiological stability of whole-wheat sandwich bread by spraying natamycin solutions with different concentrations of alcohol on the bread surface at 65°C and 30°C. The study involved microbiological analysis of molds and yeasts, determination of humidity and a sensory evaluation, by means of a triangular test with 24 semi-trained judges. Were followed the methodologies described in the AOAC and ISO methods. The analysis of humidity and the count of fungi and yeasts show that there are no significant differences ($P < 0.05$) between the treatments. When it comes to the sensory analysis, it is evident that there are no significant differences in taste. These results show that the whole-wheat sandwich bread maintains its microbiological stability during the 18 days of study, being the use of the bioconservant a response for the consumers that continually look for fresher products and less amount of chemical additives.

Keywords: bioconservation, microbiological stability, natamycin, bread.

1. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial el crecimiento de hongos en panificados es un problema serio y costoso en la industria de panificación⁽¹⁾. Se estiman pérdidas anuales de 20 millones de euros sólo en países del Reino Unido, y alrededor de 242 millones de euros en países de Europa Occidental⁽²⁾. A fin de reducir estas pérdidas, es indispensable la aplicación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), además diversos aditivos pueden ser añadidos, no obstante existen cuestionamientos sobre el uso, especialmente de los aditivos químicos⁽³⁾.

Los preservantes químicos más utilizados son el sorbato de sodio y el propionato de calcio⁽⁴⁾. Se pueden aplican directamente a la masa o bien a la superficie del producto horneado mediante un sistema de nebulización⁽⁵⁾.

En la actualidad, grandes industrias panaderas trabajan en el desarrollo de nuevas formulaciones y estrategias para reducir la cantidad de aditivos químicos utilizados y de esta forma producir panificados más frescos y naturales ⁽⁶⁾. Una de las alternativas para lograr dicho objetivo es la bioconservación, que consiste en la extensión de la vida de anaquel a través del uso de microbiota natural o controlada y/o sus compuestos antimicrobianos⁽⁷⁾.

Mientras tanto en Paraguay, los panificados son considerados alimentos de consumo masivo, se estima un consumo anual por habitante de aproximadamente 70 kg^(8, 9). Razón por la cual la panadería constituye una actividad importante en la región, los registros indican que se encuentran alrededor de 9.000 panaderías distribuidas en todo el país⁽⁹⁾.

El presente trabajo se basó en evaluar la estabilidad microbiológica del pan de molde integral aplicando por aspersión, soluciones de natamicina con diferentes concentraciones de alcohol en la superficie del panificado a 65 °C y 30 °C.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio: Prospectivo, enfoque cuantitativo.

Formulación y elaboración de soluciones conservadoras

Se elaboraron 3 soluciones conservadoras cuya composición se indica en la Tabla 1. La solución de sorbato de potasio fue utilizada como control. La concentración de natamicina a utilizar fue determinada considerando la bibliografía consultada⁽¹⁰⁾.

Tabla 1. Formulación de las soluciones conservadoras

Solución	Composición
1	13.8 ppm de Natamicina con 70% de alcohol
2	13.8 ppm de Natamicina con 92% de alcohol
3	26000 ppm de Sorbato de potasio con 92% de alcohol

Fuente: Elaboración propia (2019).

Aplicación de las soluciones conservadoras y codificación de las muestras

Las soluciones conservadoras fueron aplicadas a 65° y 30 °C sobre muestras de pan de molde integral de un mismo lote, elaborados en una panadería industrial. El mecanismo de aplicación utilizado fue por aspersión, utilizando una pistola de acción neumática. La Tabla 2 señala el código de las muestras, la temperatura de aplicación y la solución utilizada.

Tabla 2. Descripción de los tratamientos en relación al código de la muestra

Código	Temperatura del pan	Solución utilizada
M76	65°C	13.8 ppm de Natamicina con 70% de alcohol
M96		13.8 ppm de Natamicina con 92% de alcohol
C1		26000 ppm de Sorbato de potasio con 92% de alcohol
M73	30°C	13.8 ppm de Natamicina con 70% de alcohol
M93		13.8 ppm de Natamicina con 92% de alcohol
C2		26000 ppm de Sorbato de potasio con 92% de alcohol

Fuente: Elaboración propia (2019).

Rebanado, envasado y almacenamiento de las muestras

Una vez alcanzada la temperatura del ambiente, cada pan fue rebanado por una rebanadora eléctrica, en aproximadamente 30 piezas. Las mismas fueron envasadas de a 5 unidades en bolsas de polipropileno, para los análisis de mohos y levaduras así como las determinaciones de humedad.

Análisis microbiológico

Se efectuó la determinación de mohos y levaduras por duplicado, según el método de la AOAC 997.02⁽¹¹⁾. Las determinaciones se realizaron en 6 ocasiones durante los 18 días de estudio. La frecuencia de los análisis realizados se determinó teniendo en cuenta la vida útil del pan de molde, alrededor de 12 días según estudios empíricos.

Análisis de humedad

Se determinó la humedad del pan por duplicado, utilizando el método de la estufa según la norma mexicana ME-711-02-023⁽¹²⁾. El análisis se realizó en 3 oportunidades a lo largo del estudio.

Análisis sensorial

Analizando los resultados de los ensayos microbiológicos y de humedad se realizó una prueba triangular entre la muestra M73 y C2, con 24 panelistas semi entrenados utilizando como referencia la norma ISO 4120:2004 Análisis sensorial- Metodología- Prueba triangular ⁽¹³⁾. Los resultados fueron evaluados considerando la norma de referencia.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el recuento de mohos y levaduras, así como, en las determinaciones de humedad se indican en la Tabla 3.

Tabla 3. Resultados obtenidos en relación a los tratamientos y días de almacenamiento

Tratamientos	Días de almacenamiento								
	Recuento de mohos y levaduras (UFC/g)						%Humedad		
	1	6	11	13	15	18	2	11	16
C 1	<10	<10	<10	10	<10	<10	22,52	25,53	25,94
C 2	140	<10	<10	<10	<10	<10	23,34	26,07	27,08
M 96	50	<10	<10	30	10	10	22,77	26,36	25,27
M 76	420	<10	10	<10	<10	<10	23,06	27,95	25,52
M 93	10	<10	20	10	<10	<10	24,07	26,36	26,29
M 73	<10	20	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

Fuente: Elaboración propia (2019).

Análisis microbiológico de mohos y levaduras

En la Figura 1 se observa un recuento inicial en las muestras M96, C2 y M76, las dos últimas se encuentran fuera de los parámetros establecidos. El alto recuento en la muestra M76 podría deberse a la pérdida de actividad de la natamicina debido a la temperatura de aplicación (65°C), aun cuando bibliografías indican que la natamicina es estable al proceso de pasteurización ⁽¹⁴⁾ o incluso que sus soluciones pueden ser calentados a 100°C por varias horas sin pérdidas considerables de actividad ⁽¹⁵⁾. Otro factor que podría haber influido es la concentración de alcohol de la solución, la muestra M76 (70% de alcohol) a diferencia de la muestra M96 (92% de alcohol) utiliza una menor concentración. Al transcurrir los días de estudio se observó una disminución de la carga microbiana, esto podría ser consecuencia de la acción combinada del alcohol y la natamicina ya que ambas sustancias son consideradas fungicidas.

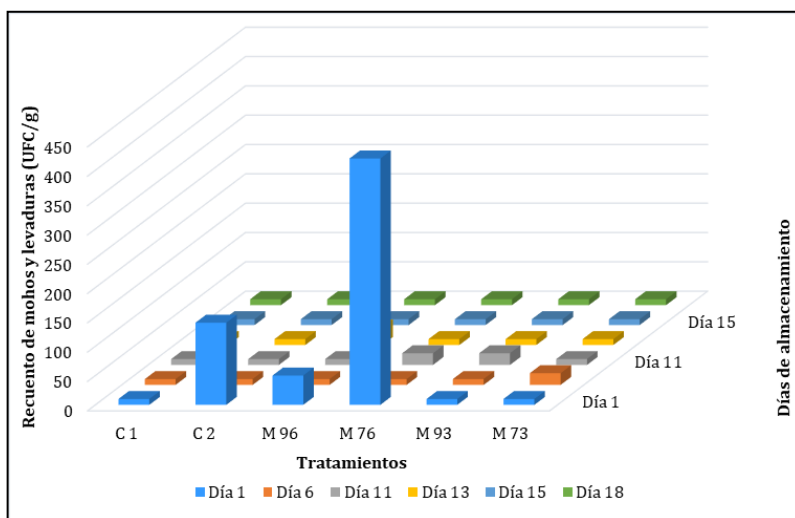


Figura 1. Variación existente entre los diferentes tratamientos en relación al recuento de mohos y levaduras. **C 1:** Control (Sorbato de potasio- 65°C temperatura del pan- 92% alcohol); **C 2:** Control (Sorbato de potasio- 30°C temperatura del pan- 92% alcohol); **M 96** (92% de alcohol- 65°C temperatura del pan); **M 76** (70% de alcohol- 65°C temperatura del pan); **M 93** (92% de alcohol- 30°C temperatura del pan); **M 73** (70% de alcohol- 30°C temperatura del pan).

La Figura 2 muestra que no existen diferencias estadísticamente significativas entre la media del recuento de mohos y levaduras entre un nivel de tratamiento y otro ($P < 0.05$). Pudiéndose aplicar a 30°C o 65°C las soluciones de natamicina, con mayor o menor porcentaje de alcohol.

Los resultados obtenidos coinciden con los estudios realizados por DSM Food Specialties⁽¹⁶⁾, quienes evidenciaron la actividad antifúngica de la natamicina durante 18 días en pasteles de luna y 70 días en magdalenas, en ambos casos el bioconservante fue utilizado en suspensión y aplicado por aspersión.

Otras bibliografías consultadas detallan los siguientes resultados, Hernández⁽¹⁷⁾ determinó 9 días como la vida útil del pan de molde descortezado utilizado natamicina por aspersión, Ríos⁽¹⁸⁾ estimó 10 días como la vida útil del pan de molde blanco, San Lucas⁽¹⁰⁾ determinó 28 días de estabilidad microbiológica del pan recubierto con antimicrobianos naturales, Saranraj⁽³⁾ evaluó como 10 días la vida de anaquel de panificados artesanales utilizando esencia de clavo de olor.

Teniendo en cuenta los resultados microbiológicos obtenidos, así como las investigaciones consultadas se demuestra el potencial de la natamicina como antifúngico en panificados.

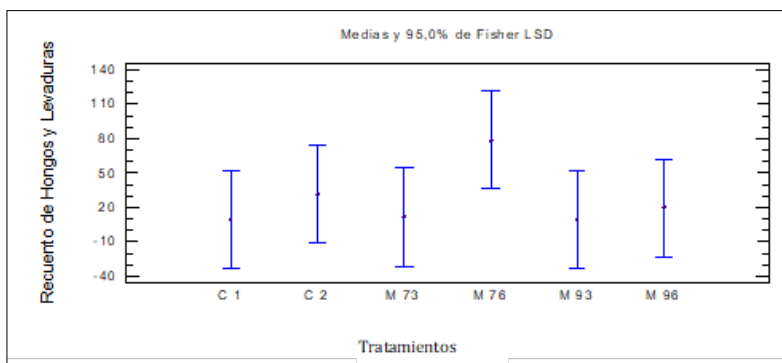


Figura 2. Medias de los tratamientos en relación al recuento de mohos y levaduras. **C 1:** Control (Sorbato de potasio- 65°C temperatura del pan- 92% alcohol); **C 2:** Control (Sorbato de potasio- 30°C temperatura del pan- 92% alcohol); **M 73** (70% de alcohol- 30°C temperatura del pan), **M 76** (70% de alcohol- 65°C temperatura del pan); **M 93** (92% de alcohol- 30°C temperatura del pan); **M 96** (92% de alcohol- 65°C temperatura del pan).

Análisis de humedad

En todas las muestras se observó un aumento de la humedad entre el día 2 y el 16, esto se debe a la transferencia de humedad desde la miga a la corteza fenómeno que ocurre durante el envejecimiento del pan⁽⁵⁾.

En otro estudio realizado al pan de molde blanco, igualmente se ha reportado un incremento en la humedad entre los días de almacenamiento 1 y 9 ⁽¹⁸⁾.

La Figura 4 presenta el gráfico de medias en relación a porcentajes de humedad del pan de molde. La figura 4 muestra que no existe diferencia significativa entre los tratamientos, a un nivel del 95,0% de confianza.

En otro estudio realizado al pan de molde blanco, igualmente se ha reportado un incremento en la humedad entre los días de almacenamiento 1 y 9 ⁽¹⁸⁾.

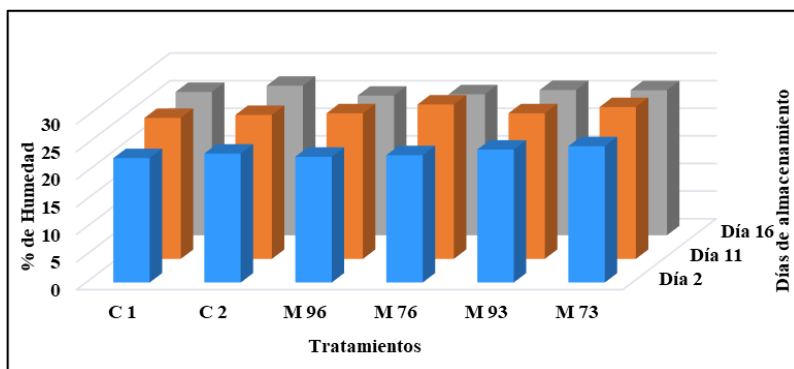


Figura 3. Comportamiento de las muestras en relación al % de humedad y los días de almacenamiento. **C 1:** Control (Sorbato de potasio- 65°C temperatura del pan- 92% alcohol); **C 2:** Control (Sorbato de potasio- 30°C temperatura del pan- 92% alcohol); **M 96** (92% de alcohol- 65°C temperatura del pan); **M 76** (70% de alcohol- 65°C temperatura del pan); **M 93** (92% de alcohol- 30°C temperatura del pan); **M 73** (70% de alcohol- 30°C temperatura del pan).

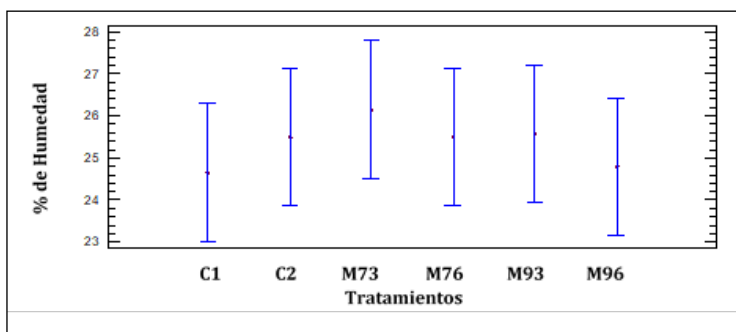


Figura 4. Figura de medias de los tratamientos en relación al porcentaje de humedad. **C 1:** Control (Sorbato de potasio- 65°C temperatura del pan- 92% alcohol), **C 2:** Control (Sorbato de potasio- 30°C temperatura del pan- 92% alcohol), **M 76** (70% de alcohol- 65°C temperatura del pan), **M 93** (92% de alcohol- 30°C temperatura del pan), **M 96** (92% de alcohol- 65°C temperatura del pan).

Análisis sensorial

En la Figura 5 se observa que sólo el 25% de los panelistas evaluaron correctamente la muestra diferente ABB, correspondiente al pan de molde rociado a 30°C con solución de natamicina al 70% de alcohol (M73), las

muestras AAB y ABA corresponden a la solución control también rociada a 30°C (C2).

La norma de referencia indica que para concluir que existe una diferencia significativa es necesario que el 54% de los panelistas señalen correctamente la muestra diferente, teniendo en cuenta el número de aciertos obtenidos no existe diferencia significativa entre las muestras a un intervalo de confianza del 95%.

Este resultado confirma lo señalado por Hernández⁽¹⁷⁾, Stark⁽¹⁵⁾ y Thien⁽¹⁹⁾ quienes manifiestan que la natamicina no confiere olor ni sabor a los alimentos.

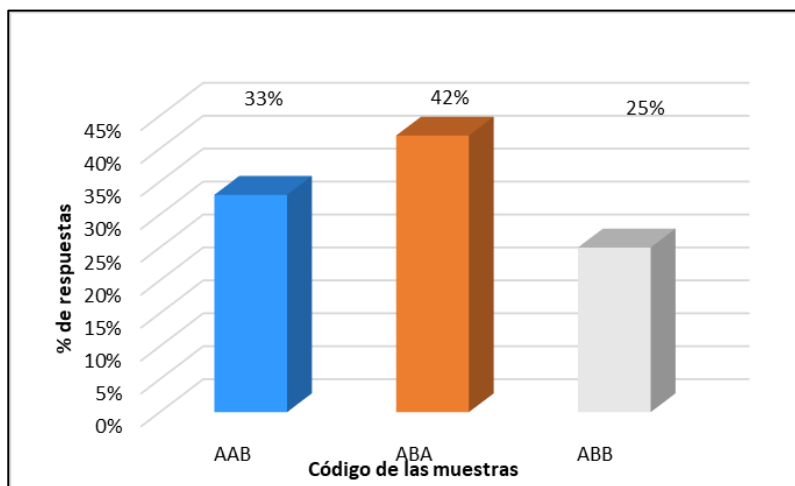


Figura 5. Resultados de la prueba triangular entre el tratamiento M73 (70% de alcohol- 30°C temperatura del pan) y C2 Control (Sorbato de potasio- 30°C temperatura del pan- 92% alcohol).

4. CONCLUSIÓN

El pan de molde integral se mantuvo microbiológicamente estable durante los 18 días de estudio mediante la aplicación de soluciones de natamicina, a las temperaturas establecidas.

Los resultados obtenidos en el recuento de mohos y levaduras, así como en la determinación de humedad y la evaluación sensorial no evidenciaron diferencias significativas entre el uso de sorbato de potasio y Natamicina,

demostrando que los conservantes naturales son tan efectivos como los conservantes químicos.

Por lo expuesto se deduce que la natamicina podría constituirse en una alternativa eficaz como bioconservante en el sector panadero satisfaciendo las exigencias de los consumidores que busca adquirir productos más frescos y reducidos en conservantes químicos. Por otro lado, fue posible constatar que tiene un menor costo en relación a lo habitualmente utilizado, traduciéndose esto en un beneficio adicional.

AGRADECIMIENTO

A la MSc. Liz Ríos por poner a disposición su tiempo y conocimientos durante toda la investigación. A la empresa Interpan S.A., en la persona de su representante legal la Sra. Bettina Hiebl por su apertura y facilitarme todos los recursos necesarios para llevar a cabo esta investigación. A la Lic. Ma. del Carmen Guerrero, Gerente de Calidad y Producción y todo el personal de la empresa Interpan S.A. por las gestiones realizadas y el apoyo a lo largo del estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Williams G, Delves J, Faragher J, Salmela D, Hardy J, Haugan K, et al. Producto horneado con natamicina y un proceso para ello. Madrid; 2012.
2. Fierro H, Jara J. Estudio de vida útil del pan de molde blanco. Guayaquil; 2010.
3. Saranraj P. Spoilage of bread and its control measures Tamil Nadu: Taylor & Francis Group; 2016.
4. Pilco S, Quito M, Quispe S. Conservación de pan artesanal Ezequiel y pan Superbueno usando aceite esencial de clavo de olor. Revista de Investigación Universitaria. 2009; 12-17.
5. De la Fuente Salcido N, Barboza Corona J. Inocuidad y Bioconservación de alimentos. Acta Universitaria. 2010; 43-52.
6. VGP SL. Natamycin VGP. [Online].; 2019. Available from: <https://www.natamycinvgp.com/es/producto-natamicina/>
7. Suhr KI, Nielsen PV. Effect of weak acid preservatives on growth of bakery product spoilage fungi at different water activities and pH values. International Journal of Food Microbiology. 2004; 67-78.
8. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Resolución S.G. N°792 Por la cual se reglamenta el contenido de sal en productos panificados de consumo masivo. 2015.
9. Agencia Procórdoba S.E.M. Panificación. Investigación de Mercado Sector Pastas y Panificación Paraguay. 2017 noviembre; 55-67.

10. San Lucas C. Uso de natamicina en pan de molde sin corteza para aumentar el tiempo de vida útil. Guayaquil; 2011.
11. AOAC. AOAC 997.02 Yeast and Mold Counts in Foods. 2000.
12. Instituto de Salud Pública - Gobierno de Chile. Determinación de Humedad en Alimentos. Metodo de estufa universal y/o estufa de vacío. 2015.
13. ISO. ISO 4120:2004 Análisis sensorial - Metodología - Test Triangular. 2004.
14. Talavera R. Aplicación de recubrimientos a base de antimicrobianos naturales para la mejora de la conservación del pan. Valencia; 2015.
15. Stark J. Natamycin: An effective fungicide for food and beverages. In Specialties DF. Natural antimicrobials for the minimal processing of foods. Países Bajos: DSM Food Specialties; 2004. p. 82-95.
16. DSM Food Specialties BV. GRAS Notification for the use of natamycin in ready to drink tea beverages; fruit flavored energy, sport and isotonic drinks and fruit flavored drinks. Holanda; 2015.
17. Hernandez E. Análisis Sensorial Bogotá: Centro Nacional de Medios para el aprendizaje; 2005.
18. Ríos P. Aplicación de conservantes en panecillos para prolongar la vida de anaquel. Ciudad de México; 2010.
19. Thien Dao PD. Control of food spoilage fungi by ethanol. Food Control. 2011: 360-368.