

664  
H43



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO**

FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y DE ALIMENTOS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS

**EFFECTO DEL PROPIONATO DE CALCIO Y BIOCITRO  
SOBRE EL CRECIMIENTO DE MOHOS EN EL PAN  
DE MOLDE BLANCO**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO DE ALIMENTOS

**JOSÉ ALBERTO HERNÁNDEZ VARGAS**

Callao, julio del 2011

PERÚ

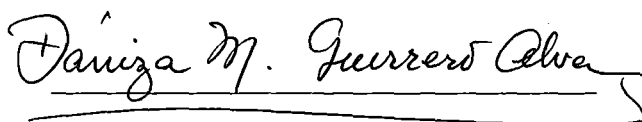
**EFFECTO DEL PROPIONATO DE CALCIO Y BIOCITRO  
SOBRE EL CRECIMIENTO DE MOHOS EN EL PAN  
DE MOLDE BLANCO**

El presente trabajo de tesis titulado:

**EFFECTO DEL PROPIONATO DE CALCIO Y BIOCITRO  
SOBRE EL CRECIMIENTO DE MOHOS EN EL PAN  
DE MOLDE BLANCO**

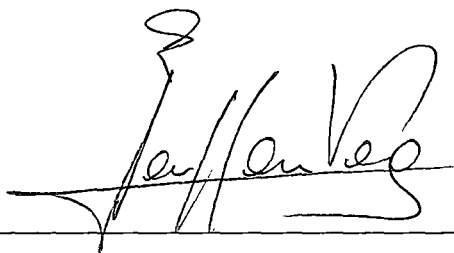
Fue realizado por el Bach. José Alberto  
Hernández Vargas, bajo la supervisión de la asesora  
Dra. Ing°. Daniza Guerrero Alva

Profesora Asesora:



Dra. Ing°. Daniza Guerrero Alva

Tesista:



Bach. José Alberto Hernández Vargas

## **DEDICATORIA**

A mis padres Alberto Hernández y Esther Vargas por sus enseñanzas, consejos y por su apoyo incondicional durante mis años de estudio y siempre...

## AGRADECIMIENTOS

A Dios, por bendecir mi camino, por permitirme lograr las metas que he trazado en mi vida y por darme las fuerzas necesarias en los momentos en que más las necesite y bendecirme con la posibilidad de caminar a su lado durante toda mi vida.

Al Dr. Ing<sup>o</sup>. José Ramón Cáceres Paredes, ex director del Centro Experimental Tecnológico (CET), por todo el apoyo brindado para la realización de esta investigación, por su confianza y prestación mostrada desde el primer día de trabajo en el laboratorio.

A la Dra. Ing<sup>o</sup>. Daniza Guerrero Alva, por todo el apoyo recibido, sobre todo por la predisposición mostrada desde el primer día que se inicio este proyecto.

A mis compañeros del CET, por los buenos y malos momentos que hacen que uno madure en lo personal y profesional. A Erick Álvarez y Cindy Casaverde, amigos con quienes compartí la universidad y largas horas en el laboratorio, por encontrarse siempre dispuesto cuando se les fue requerido.

A todo el personal del CET, por haberme atendido y albergado en todo este tiempo. Al Sr. Aldo Paz, por su colaboración, paciencia y consejos recibidos durante este período en la panadería y al Sr. Walter Paulino, por su disposición en la solución de problemas técnicos de los equipos e instalaciones.

A mis padres Alberto y Esther, por su cariño, protección y por todo el sacrificio realizado para sacarme adelante. A mis hermanos Faviola y Franco, por comprenderme y apoyarme en todo este tiempo.

A mi amor Judith, por su apoyo y comprensión, por hacer que retome la calma cuando las cosas salían fuera de sitio. Gracias por caminar a mi lado durante todo este tiempo y mostrarme con una sonrisa, que el amor de verdad puede existir.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

	<b>Página</b>
RESUMEN	xi
INTRODUCCIÓN	xii
<b>CAPÍTULO I        PROBLEMA</b>	
1.1 Formulación y definición del problema	1
1.2 Justificación	4
1.3 Importancia	5
<b>CAPÍTULO II        OBJETIVOS</b>	
2.1 Objetivos general	6
2.2 Objetivos específicos	6
2.3 Alcances de la investigación	7
<b>CAPÍTULO III       MARCO TEÓRICO</b>	
3.1 Antecedentes	8
3.2 Revisión literaria	15
I  3.2.1 PAN DE MOLDE BLANCO	15
3.2.1.1 Características Generales	15
3.2.1.2 Características Sensoriales	17
3.2.1.3 Características Fisicoquímicas	18
3.2.1.4 Características Microbiológicas	19
3.2.1.5 Mecanismos de Alteración	21
3.2.2 ELABORACION DEL PAN DE MOLDE BLANCO	
3.2.2.1 Sistemas de elaboración	24
3.2.2.2 Funciones y características de los insumos	28
3.2.2.3 Etapas de elaboración del pan de molde blanco	36
3.2.3 MOHOS EN LOS ALIMENTOS	48
3.2.3.1 Generalidades	48

3.2.3.2	Crecimiento de mohos	54
3.2.3.3	Intoxicaciones alimentarias por mohos	62
3.2.3.4	<i>Rhizopus stolonifer.</i>	64
3.2.4	AGENTES ANTIMICROBIANOS	67
3.2.4.1	Modo de acción de los antimicrobianos	70
3.2.4.2	Propionato de Calcio	71
3.2.4.3	Biocitro	75
3.2.5	ANÁLISIS SENSORIAL	79
3.2.5.1	Prueba de la escala hedónica	79
CAPÍTULO IV MATERIALES Y MÉTODOS		
4.1	LUGAR DE EJECUCIÓN	82
4.2	MATERIA PRIMA E INSUMOS	82
4.3	MATERIALES Y EQUIPOS	84
4.3.1	Materiales	84
4.3.2	Equipos	84
4.3.3	Reactivos / Medios de Cultivo	85
4.4	TIPOS DE INVESTIGACIÓN	85
4.5	DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	86
4.6	DESCRIPCION DE LA EXPERIMENTACION	89
4.6.1	ELABORACIÓN DEL PAN DE MOLDE BLANCO	91
4.6.1.1	Recepción de Insumos	91
4.6.1.2	Dosificado	91
4.6.1.3	Mezclado I (Esponja)	93
4.6.1.4	Fermentado I	93
4.6.1.5	Mezclado Final	94
4.6.1.6	División	94
4.6.1.7	Boleado	94
4.6.1.8	Moldeado	95



4.6.1.9	Fermentación final	95
4.6.1.10	Horneado	95
4.6.1.11	Enfriado	96
4.6.1.12	Embolsado	96
4.6.1.13	Almacenamiento	96
4.6.2	EVALUACIÓN DEL PAN DE MOLDE BLANCO	97
4.6.2.1	Muestreo	97
4.6.2.2	Análisis Microbiológicos	98
4.6.2.2	Análisis Físicoquímicos	98
4.6.2.2	Análisis Sensoriales	98
4.7	MÉTODOS DE ANÁLISIS	99
4.7.1	ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS	99
4.7.1.1	Determinación de pH	99
4.7.1.2	Determinación de Acidez Titulable	100
4.7.1.3	Determinación de Humedad	100
4.7.2	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	102
4.6.2.1	Recuento de Mohos	102
4.7.2	ANÁLISIS SENSORIAL	104
4.6.2.1	Prueba de la Escala Hedónica	104
4.7.3	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	105
CAPÍTULO V	RESULTADOS	106
CAPÍTULO VI	DISCUSIÓN	129
CAPÍTULO VII	CONCLUSIONES	134
CAPÍTULO VIII	RECOMENDACIONES	136
CAPÍTULO IX	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	137
APÉNDICE		143
ANEXOS		145

**ÍNDICE DE TABLAS**

	<b>Pagina</b>
Tabla N° 1 Composición química del pan de molde.	16
Tabla N° 2 Especificaciones Fisicoquímicas del Pan de Molde Blanco.	18
Tabla N° 3 Especificaciones Microbiológicas del Pan de Molde Blanco.	19
Tabla N° 4 Criterios Microbiológicos para Productos de Panadería	20
Tabla N° 5 Composición media de una Harina Panadera.	28
Tabla N° 6 Fenómenos que ocurren en el interior de la masa durante la cocción.	45
Tabla N° 7 Conservantes químicos en Panificación.	69
Tabla N° 8 Niveles sugeridos para el uso de Propionato de Calcio.	74
Tabla N° 9 Composición del Biocitro.	75
Tabla N° 10 Espectro antimicrobiano del Biocitro.	77
Tabla N° 11 Niveles sugeridos para el uso de Biocitro.	78

## ÍNDICE DE CUADROS

		<b>Página</b>
Cuadro N° 1	Parámetros cinéticos de crecimiento de mohos y tiempo de vida útil del pan de molde blanco en los tres tratamientos con Propionato de Calcio.	107
Cuadro N° 2	Prueba de Tukey (HSD) entre los tratamientos con Propionato de Calcio ( $\alpha = 0.05$ ).	109
Cuadro N° 3	Parámetros cinéticos de crecimiento de mohos y tiempo de vida útil del pan de molde blanco en los tres tratamientos con Biocitro.	110
Cuadro N° 4	Prueba de Tukey (HSD) entre los tratamientos con Biocitro ( $\alpha = 0.05$ ).	112
Cuadro N° 5	Valores de Humedad de los panes de molde blanco elaborados con Propionato de Calcio y Biocitro.	113
Cuadro N° 6	Valores de pH de los panes de molde blanco elaborados con Propionato de Calcio y Biocitro.	115
Cuadro N° 7	Valores de acidez titulable de los panes de molde blanco elaborados con Propionato de Calcio y Biocitro.	117
Cuadro N° 8	Parámetros cinéticos de crecimiento de mohos y tiempo de vida útil en panes de molde blanco elaborados con P-3500 a dos rangos de temperatura: $19 \pm 3^\circ\text{C}$ y $35 \pm 3^\circ\text{C}$ .	121
Cuadro N° 9	Parámetros cinéticos de crecimiento de mohos y tiempo de vida útil en panes de molde blanco elaborados con B-2000 a dos rangos de temperatura: $19 \pm 3^\circ\text{C}$ y $35 \pm 3^\circ\text{C}$ .	124
Cuadro N° 10	Parámetros cinéticos de crecimiento de mohos y tiempo de vida útil del pan de molde blanco con los tratamientos Control y B-2000.	127
Cuadro N° 11	Prueba "t student" entre los tratamientos Control y B-2000 ( $\alpha = 0.05$ ).	128

## ÍNDICE DE FIGURAS

		<b>Pagina</b>
Figura N° 1	Colonia de <i>Aspergillus Niger</i> y sus partes.	48
Figura N° 2	Detalle de una Hifa.	50
Figura N° 3	Reproducción sexual de los mohos.	52
Figura N° 4	Parámetros cinéticos de crecimiento bacteriano en una curva típica: Modelo Baranyi and Robert, 1994.	60
Figura N° 5	Esporangio de <i>Rhizopus stolonifer</i> .	65
Figura N° 6	Tipos de Escala Hedónica.	81
Figura N° 7	Presentación de 50 g de Biocitro.	83
Figura N° 8	Diseño de la Investigación.	87
Figura N° 9	Diseño Experimental del estudio	90
Figura N° 10	Diagrama de elaboración del pan de molde blanco	92
Figura N° 11	Balanza de Humedad	101
Figura N° 12	Colonias de mohos en Agar OGYE	103
Figura N° 13	Análisis Sensorial del Pan de Molde Blanco	104

## ÍNDICE DE GRAFICOS

		<b>Pagina</b>
Gráfica N° 1	Curvas de crecimiento promedio de mohos de los tres tratamientos con Propionato de Calcio (1500, 2500 y 3500 ppm).	108
Gráfica N° 2	Curvas de crecimiento promedio de mohos de los tres tratamientos con Biocitro (1500, 2000 y 2500 ppm).	111
Gráfica N° 3	Evaluación de la Humedad en los panes de molde blanco elaborados con Propionato de Calcio y Biocitro.	114
Gráfica N° 4	Evaluación de pH en los panes de molde blanco elaborados con Propionato de Calcio y Biocitro.	116
Gráfica N° 5	Evaluación de la acidez titulable en los panes de molde blanco elaborados con Propionato de Calcio y Biocitro.	118
Gráfica N° 6	Evaluación sensorial de los panes de molde blanco elaborados con Biocitro.	119
Gráfica N° 7	Curvas de crecimiento de crecimiento promedio de mohos del pan de molde blanco elaborado con P-3500 y almacenado a dos rangos de temperatura: $19 \pm 3$ °C y $35 \pm 3$ °C.	122
Gráfica N° 8	Curvas de crecimiento de crecimiento promedio de mohos del pan de molde blanco elaborado con B-2000 y almacenado a dos rangos de temperatura: $19 \pm 3$ °C y $35 \pm 3$ °C.	125
Gráfica N° 9	Curvas de crecimiento promedio de mohos del pan de molde blanco elaborado con los tratamientos Control y B-2000.	128

## RESUMEN

Con el objetivo de comparar el efecto inhibitorio del Propionato de Calcio con el Biocitro para inhibir o eliminar el crecimiento de mohos en el pan de molde blanco, se efectuó diferentes formulaciones, reemplazando el conservante químico Propionato de Calcio (1500, 2500 y 3500 ppm) por el conservante natural Biocitro (1500, 2000 y 2500 ppm). Los panes de molde blanco fueron almacenados a temperatura ambiente de  $19 \pm 3$  °C durante 16 días de experimentación, realizándose pruebas fisicoquímicas y microbiológicas cada 48 horas. El recuento de mohos permitió obtener las curvas de crecimiento, los parámetros cinéticos de crecimiento y el tiempo de vida útil de los panes de molde blanco, las cuales fueron ajustadas usando la herramienta predictiva DMFit (Combase-USDA, 2010). Las mejores concentraciones de cada conservante también fueron evaluadas a una temperatura de almacenamiento de  $35 \pm 3$  °C. Los resultados permitieron determinar que el tratamiento P-3500 fue la mejor concentración, debido a que presentó un tiempo de vida útil de 16.5 días, mientras que el tratamiento B-2000 fue considerado el mejor debido a que otorgó un tiempo de vida útil de 12.5 días y además, no alteró las características sensoriales del producto. Así mismo, se confirmó que la temperatura de almacenamiento influye en el tiempo de vida útil del pan de molde blanco ya que lo reduce en un 16-20%. Finalmente, se mejoró considerablemente la calidad sanitaria del pan de molde blanco con el uso del conservante natural Biocitro.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad se buscan productos libres de aditivos químicos y las industrias de alimentos están en continuo desarrollo de productos naturales, que paulatinamente reemplacen los productos actuales que presentan un riesgo potencial para la salud.

El pan es uno de los alimentos que más se consume en el mundo ya que su proceso de elaboración en el momento que es fermentado produce un sabor y una textura muy especial, además que es un alimento que contiene casi todos los nutrientes como son: carbohidratos, proteínas, grasas, vitaminas y minerales. Por su composición química, representa un sustrato nutritivo ideal para el crecimiento de los microorganismos, el período de enfriamiento, la etapa del rebanado y el empaquetado proporcionan unas condiciones óptimas de incubación debido a la alta humedad del pan.

La industria panificadora tiene una gran ventaja por generar productos de gran consumo, pero por ser obtenido de un cereal, tienen alto riesgo de ser atacados por hongos, por lo cual, se hace necesario utilizar antifúngicos, específicamente el Propionato de Calcio, el cual puede desencadenar reacciones tóxicas a largo plazo en el organismo humano.

Una alternativa económica y práctica para sustituir los aditivos químicos es la utilización de extractos naturales como el Biocitro, que es un extracto de frutas cítricas. La sustitución del Propionato de calcio es la base del desarrollo de la investigación, donde se pretende utilizar el Biocitro como un sustituyente natural que brinde sus características conservantes y un nivel de aceptación de los cambios que se produce organolépticamente. Se ha descubierto que el Biocitro contiene sustancias químicas altamente antioxidantes como ácido ascórbico, ácido dehidroascórbico, ácido palmítico, alfa tocoferoles, ácidos grasos y aminoácidos.

La presente investigación propone comparar el efecto de las diferentes concentraciones de Propionato de Calcio y Biocitro, sobre el crecimiento de mohos que pueden desarrollarse en el pan de molde blanco, así como también evaluar el efecto de la temperatura de almacenamiento en el tiempo de vida útil del pan de molde blanco.



# **CAPÍTULO I**

## **PROBLEMA**

### **1.1 FORMULACIÓN Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA**

El pan, por su composición y características químicas, representa un sustrato nutritivo ideal para el crecimiento de los microorganismos, sin embargo, el pan de molde blanco y, en general, todos los productos de panadería recién hechos, al salir del horno están exentos de mohos, tanto en su forma vegetativa como esporulada. Pero inmediatamente después se convierten en un medio de cultivo óptimo, sobre el que se depositan las esporas que se encuentran en el aire.

En la fase de horneado, la masa se somete a temperaturas cercanas a los 200 °C, que acaba con todas las formas de vida. Sin embargo, en el interior de la masa, se alcanza una temperatura aproximada a 100° C, que mata sólo a las formas vegetativas. Las esporas, surgen cuando las condiciones de temperatura han vuelto a la normalidad, por lo que generalmente, a las 24-36 horas, aparecen organismos fúngicos, alterando el pan.

El período de enfriamiento, la etapa del rebanado y el empaquetado son las etapas en las que se debe tener un mayor control, ya que uno de los factores fundamentales para el desarrollo microbiano es la contaminación ambiental, es decir, la cantidad de esporas que se encuentran flotando en el aire, dentro de la sala de enfriamiento y de empaquetado.

Los movimientos de aire provocados por las diferencias de temperatura entre las zonas calientes (hornos - salas de fermentado) y las áreas más frías (zonas de enfriado y empaque, por ejemplo) asegura la diseminación de esporas contaminantes. La cantidad de mohos tiende a aumentar en algunas estaciones, tales como el verano y el otoño

Actualmente existen varios métodos para luchar contra el enmohecimiento, debido a las pérdidas económicas que representa este problema y sobre todo porque involucra la inocuidad del alimento, se ha visto conveniente optar por diferentes formas para la conservación del pan de molde blanco. El uso de sustancias químicas para combatir el florecimiento de hongos es una práctica habitual para la conservación de los productos de panadería cuando estos deben mantenerse más de 2 ó 3 días, sin embargo, no cumplen con el concepto de natural o seguro que los consumidores demandan.

Existe en la actualidad una creciente preocupación por los efectos potencialmente nocivos de dichos conservantes químicos sobre el medio ambiente y la salud humana. Es así, como los productores de alimentos han sido forzados a tratar de remover completamente el uso de antimicrobianos químicos o adoptar alternativas naturales para el mantenimiento o extensión de la vida útil de sus productos.

Biocitro es una biomasa cítrica con trazas de compuestos orgánicos de ácido ascórbico, bioflavonoides cítricos, ácido cítrico, etc. con poder residual antioxidante y antimicrobiano. La acción microbiostática extendida del Biocitro se realiza mediante la sinergia del ácido ascórbico, bioflavonoides y los otros ácidos orgánicos que contiene, contribuyendo a mantener los caracteres organolépticos, la conservación y/o estabilidad del alimento.

La investigación efectuada propuso la utilización del conservante natural Biocitro para combatir el crecimiento de mohos en el pan de molde blanco, comparándolo paralelamente con el tradicional conservante químico conocido como Propionato de Calcio. En el desarrollo de la investigación se experimentó con diferentes concentraciones de Biocitro, para llegar a los parámetros adecuados que nos permitieron obtener un producto final bueno, tanto en sabor, aspecto y calidad sanitaria.

La investigación quedó planteada bajo las siguientes interrogantes:

¿Es posible reemplazar el Propionato de Calcio por Biocitro con la finalidad de inhibir o eliminar el crecimiento de mohos en el pan de molde blanco?

¿Cuál de los dos conservantes (Propionato de Calcio o Biocitro) reduce la mayor cantidad de mohos en el pan de molde blanco, cuando es sometido a diferentes concentraciones?

## **1.2 JUSTIFICACION**

La presente investigación, buscó utilizar el Biocitro como un conservante natural que permitiera inhibir el crecimiento de mohos en el pan de molde blanco en reemplazo del Propionato de Calcio y de este modo garantizar la inocuidad del producto. La calidad sanitaria del pan de molde blanco está en juego debido a las toxinas producidas por los mohos que crecen en el pan de molde blanco.

Los métodos químicos tradicionales para la preservación del pan de molde blanco han sido insuficientes, la utilización del Biocitro como conservante natural es una nueva opción para garantizar la inocuidad del pan de molde blanco. La aplicación de este conservante natural durante el

proceso de elaboración del pan de molde blanco permite reducir la cantidad de conservantes químicos y extender la vida útil, lográndose un producto más natural y con excelentes características tecnológicas.

Teniendo en cuenta las pérdidas económicas asociadas a la contaminación fúngica y el riesgo de producción de micotoxinas que pueden afectar la salud humana, quedó justificada nuestra investigación.

### **1.3 IMPORTANCIA**

El presente estudio permitió obtener información básica del uso del Biocitro, como una alternativa de conservante de origen natural para inhibir el crecimiento de mohos, y así garantizar la inocuidad del pan de molde blanco, prolongando su tiempo de vida útil, ofreciendo de esta manera beneficios económicos a la industria panadera.

Además el presente estudio facilitó obtener evidencia científica que servirá como base para futuras investigaciones, aplicadas al uso de este conservante, en el campo de la conservación de otros productos de panadería.

## **CAPÍTULO II**

### **OBJETIVOS**

La ejecución del presente proyecto tiene los siguientes objetivos:

#### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

Comparar el efecto de las diferentes concentraciones de Propionato de Calcio y el Biocitro, sobre el crecimiento de mohos que pueden desarrollarse en el pan de molde blanco almacenado a diferentes temperaturas.

#### **2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Determinar la concentración de Propionato de Calcio que inhibe o elimina el crecimiento de mohos en el pan de molde blanco.
  
- Determinar la concentración del conservante natural Biocitro que inhibe o elimina el crecimiento de mohos en el pan de molde blanco.

- Evaluar el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el crecimiento de mohos en el pan de molde blanco elaborado tanto con Propionato de Calcio y Biocitro, en las dosis correspondientes a la mejor concentración.
  
- Mejorar la calidad sanitaria del pan de molde blanco, a través del uso del conservante natural Biocitro.

### **2.3 ALCANCES DE LA INVESTIGACION**

La investigación efectuada estableció una comparación entre el efecto de las diferentes concentraciones del Propionato de Calcio y las diferentes concentraciones del conservante natural Biocitro frente al crecimiento de mohos en el pan de molde blanco, determinando la mejor concentración para cada tipo de conservante y evaluando en la mejor dosis el efecto de la influencia de la temperatura de almacenamiento en la vida útil del pan de molde blanco.

## **CAPÍTULO III**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **3.1. ANTECEDENTES**

Carrillo Meza, A. (2007), evaluó el efecto de dos antimicrobianos: sorbato de potasio y propionato de calcio, para prolongar la vida útil del pan parcialmente horneado almacenado en refrigeración. Para ello, fabricó cuatro lotes de pan parcialmente horneados y refrigerados con diferentes tipos y concentraciones de antimicrobianos, los cuales fueron: sorbato de potasio al 0.1%, propionato de calcio al 0.1%, propionato de calcio al 0.05%, y sorbato de potasio y propionato de calcio juntos al 0.05% cada uno. Conjuntamente elaboró un lote de pan parcialmente horneado, sin antimicrobianos, el cual sirvió como muestra control. Todos los lotes de pan parcialmente horneado fueron almacenados entre 4°C y 6°C, siendo evaluados después de 0, 1, 2, 4, 7, 14, 21 y 28 días de almacenamiento. Para determinar la estabilidad del pan parcialmente horneado, evaluó la carga microbiana (mesofilos, hongos y levaduras), obteniendo resultados que le permiten afirmar que la adición de sorbato de potasio o propionato de calcio en una concentración del 0.1% o de una mezcla de ambos antimicrobianos en una concentración del 0.05% cada uno, mantiene el pan parcialmente horneado en refrigeración en buenas condiciones



durante al menos 28 días, permitiendo obtener pan terminado de hornear de calidad aceptable.

Martínez Viveros, M. (2008), extrajo y caracterizó el aceite esencial de Lima, para luego evaluar su actividad antimicrobiana en un sistema modelo inoculado con *Aspergillus flavus* en agar papa dextrosa con pH de  $5.6 \pm 0.2$ , teniendo un control (sin aceite) y sistemas con 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6% y 7% de aceite esencial de lima, se inocularon con 50  $\mu\text{l}$  en concentraciones de  $5 \times 10^3$  de esporas de *Aspergillus flavus* midiéndose diariamente el crecimiento radial observándose que en concentraciones de 4% de aceite el moho se adapta al medio y con 7% de aceite es muy lento. Luego evaluó la actividad antimicrobiana en un pan tipo “panque” por su compatibilidad sensorialmente con el aceite de lima, elaborado en laboratorio, al cual se adiciono el aceite esencial en concentraciones de 3% de aceite por ser la concentración antes de que el moho se adapte al medio y 7% de aceite por la actividad que tiene in vitro, los resultados no fueron los esperados de tal forma que concluye que es efectivo el aceite de lima in vitro y no en el pan con la formulación utilizada.

Mejía y Ríos (2008), probaron diferentes formulaciones de pan reemplazando el conservante propionato de calcio por extracto de romero, debido al poder antifúngico y micostático que se le confiere y a la tendencia por los productos naturales. Se obtuvo el extracto por el método

soxhlet y se realizaron tres formulaciones para someterlas a un análisis comparativo de los atributos físicos y organolépticos, por medio de análisis sensorial aplicando pruebas hedónicas verbales y de perfil, los datos fueron sometidos a un análisis de varianza y comparación de atributos en un grafico radial, que muestran una tendencia al punto medio en todas las formulaciones, no se presento una desviación significativa y los atributos físicos se conservaron en el tiempo, sin embargo se acentuó el sabor a romero, pero igualmente se acentuó el propionato de calcio de la muestra patrón. Adicional a esto en un periodo de conservación bajo las mismas condiciones no se presento crecimiento microbiano en el patrón ni en las muestras adicionadas con romero.

Fierro y Jara (2010), estudiaron la vida útil del pan de molde blanco, con el objetivo de conocer las características de calidad y el tiempo de anaquel del pan blanco tipo molde, así como también identificar los principales mecanismos de alteración del pan blanco tipo molde, para ello compró 10 panes de molde blanco del mismo lote a una empresa panificadora realizando análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales cada 2 días por 10 días, estas se realizaron por duplicado. Las muestras se almacenaron en condiciones normales de ambiente. De acuerdo a los datos reportados para estabilidad según análisis de laboratorio y sensoriales por medio de panelistas entrenados, se podría estimar que el tiempo aproximado de vida útil del pan blanco de molde es

de 10 días, al término de este tiempo se presentaron indicios de descomposición en el pan esto se evaluó mediante los análisis sensoriales en el atributo de olor y textura. A pesar de que el tiempo de caducidad del producto es de 7 días. Por medio del recuento microbiano y también sensorial se permitió verificar la calidad y sus características como son: nutritiva, organoléptica y ausencia de contaminantes en el pan y comprobar el cumplimiento de metas de preservación.

Piico y col. (2009), evaluaron la vida en anaquel del pan artesanal Ezequiel (CITAL) y pan de molde comercial Superbueno (Productos Unión), usando aceite esencial del clavo de olor (*Eugenia Caryophyllus*) como antimoho. El aceite esencial fue obtenido por el método de hidrodestilación, con un rendimiento de 15% (m/m). Del análisis microbiológico del pan Superbueno (pan comercial) se identificaron una cepa de levadura y dos mohos que corresponden al género *Penicillium*. Del pan Ezequiel se identificaron tres cepas aisladas de mohos, la cepa blanca corresponde al género *Penicillium*, y dos cepas de género no identificado. La aplicación del aceite esencial a las seis cepas aisladas fueron a tres concentraciones (10 µl, 12.5 µl y 15 µl). Los resultados mostraron la ausencia de mohos hasta un periodo de incubación de 57 días. Finalmente, se comparó la efectividad del aceite esencial de clavo de olor con un antimoho comercial (Pargermex, aceite esencial de cítricos), aplicándose en forma de spray al pan Ezequiel. El aceite

esencial de clavo de olor presenta la misma capacidad inhibitoria que el antimoho comercial por un periodo de 10 días.

Grundy (1996), citado por Carrillo Meza, A. (2007), menciona que algunas pruebas realizadas han corroborado que agregando propionato de calcio en una concentración del 0.1% al pan, la aparición de mohos en el producto se retrasa hasta 8 días; por otra parte si el propionato se agrega en una concentración del 0.2%, la vida útil del producto será de 11 días aproximadamente.

Carrillo y col (2007), modelaron el crecimiento de *Rhizopus oryzae*, hongo deteriorativo de alimentos, en función de la temperatura, la actividad de agua ( $a_w$ ) y el pH. Las curvas de crecimiento de *Rhizopus oryzae* se generaron a las condiciones de temperatura (20 y 30 °C),  $a_w$  (0.895 y 0.99) y pH (3 y 5) dadas por un diseño factorial completo. Dichas curvas se obtuvieron al graficar el diámetro de las colonias contra el tiempo y se ajustaron con el modelo de Baranyi para obtener los parámetros de crecimiento (velocidad específica de crecimiento, tiempo de latencia y crecimiento máximo), a partir de los cuales se generó un modelo polinomial. El análisis estadístico indicó que todos los factores ejercen un efecto significativo ( $p < 0.001$ ) sobre el crecimiento del hongo.

Royo y col. (2001), comprobaron in vivo e in vitro, la actividad antibacteriana del Biocitro. In vitro calcularon la Concentración Mínima Inhibitoria para *Lactococcus garvieae*, agente productor de la estreptococosis en la trucha y la tilapia, en 15ppm; *Aeromonas salmonicida*, agente causal de la furunculosis, en 60 ppm. Para *Aeromonas hydrophyla*, la CMI fue 150 ppm, y para *Yersinia ruckeri*, superaba las 300 ppm. Para realizar la prueba in vitro, inocularon intraperitonealmente diez truchas con *L. garvieae*, y se colocaron cinco en cada uno de los grupos, con veinte truchas sanas. A uno de los grupos se le administró un pienso con 500ppm de Biocitro, mientras que el grupo control recibió pienso sin medicación. La mortalidad registrada se refiere a las 20 truchas no inoculadas. Al término de la experiencia, el grupo control sufrió un 90% de mortalidad, frente al 10% en el grupo tratado. Además el porcentaje de truchas infectadas, así como el recuento de bacterias en el agua de los acuarios eran superiores en el grupo control, por lo que concluyó que Biocitro fue efectivo, experimentalmente, para el control de la estreptococosis producida por *L. garvieae*.

López Bote (2002), valoró la actividad antioxidante de un Extracto de cítricos (Biocitro®) aplicado en el pienso de cerdos desde los 60 Kg. de peso vivo hasta matadero. Los animales del ensayo, realizado en una granja de producción porcina habitual, se separaron en dos grupos (1800 animales en cada uno para valorar paralelamente los índices productivos).

El grupo control con una dieta normal y el grupo testado con 200 ppm de Biocitro® incorporado en el mismo tipo de dieta. Fueron tomadas muestras de la carne en el matadero y procesadas en el citado laboratorio. Se valoraron los siguientes parámetros: capacidad de retención de agua, color, pH y oxidación. Los resultados mostraron una actividad altamente significativa de protección frente a la oxidación de la carne (Valor TBA) en el grupo tratado con Biocitro®.

Piñeiro y col (2002) concluyeron que el uso de un extracto cítrico (Biocitro) mejoraba los rendimientos de lechones en la fase del destete frente a un control positivo con antibiótico. En pruebas de campo realizadas con la adición de un extracto de cítricos en el agua de bebida de lechones destetados, se consiguió obtener lotes de animales más homogéneos y con menores índices de mortalidad.

Otros trabajos han mostrado que se puede alargar la vida útil de la carne añadiendo extractos cítricos (Biocitro) y disminuir la oxidación y las pérdidas por exudación mediante la alimentación del cerdo blanco en la última fase del engorde. En corderos también se llevó a cabo una prueba en el 2007 con un extracto de cítricos, cuyos resultados, aparte de las mejoras productivas, mostraron un notable control en la oxidación post mórtem de la carne y por tanto una mejora de su calidad.

## **3.2. REVISION LITERARIA**

### **3.2.1. PAN DE MOLDE BLANCO**

#### **3.2.1.1. Características Generales**

Según la NTP 206.004 el pan de molde blanco: “Es el producto obtenido por la cocción en moldes, de una masa fermentada hecha básicamente con harina de trigo, con un máximo de 82% de extracción, agua potable, sal, azúcar, levadura y manteca, pudiendo tener otros ingredientes y aditivos permitidos”.

Se define al pan como un alimento básico elaborado con masa de harina y agua, que se fermenta con levadura y se hornea. Por lo general, la harina es de trigo. Tiene múltiples formas, sabores y tamaños. (Bilheux y col., 1990).

El pan es uno de los alimentos que más se consume en el mundo ya que su proceso de elaboración en el momento que es fermentado produce un sabor y textura muy especial, además que es un alimento que contiene casi todos los nutrientes como son: carbohidratos, proteínas, grasas, vitaminas y minerales. (Tabla N° 1).

**Tabla N° 1. Composición química del pan de molde**

<b>COMPOSICION QUIMICA DEL PAN DE MOLDE</b> <b>(Por 100 gramos de porción comestible)</b>			
<b>Agua</b>	20.8 g	<b>Hierro</b>	0.4 mg
<b>Proteína</b>	6.8 g	<b>Fósforo</b>	60 mg
<b>Grasa</b>	2.5 g	<b>Tiamina</b>	0.08 mg
<b>Carbohidratos</b>	69.2 g	<b>Riboflavina</b>	0.16 mg
<b>Ceniza</b>	0.7 g	<b>Niacina</b>	1.22 mg
<b>Calcio</b>	13 mg	<b>Energía</b>	332 Kcal

**Fuente:** Collazo y col. (1996)

Las características del pan y otros productos fermentados dependen poderosamente de la formación de la red de gluten en la masa, no solo para atrapar el gas procedente de la fermentación sino también porque contribuye directamente a la formación de una estructura alveolar en la miga que, tras el horneado, confiere una textura y palatabilidad diferente a la de otros productos horneados.

El pan de molde blanco, es un tipo de pan que se caracteriza por tener una textura muy blanda. Suele conservarse mucho más tiempo tierno en comparación al resto de los panes. Su contenido en grasas es mayor que el pan común, ya que a diferencia de este último, acostumbra a llevar



mantequilla u otras grasas. Existen múltiples variedades de pan de molde: pan blanco, integral, sin corteza, con cereales, etc.

### **3.2.1.2. Características Sensoriales**

Según la NTP 206.004: “El pan de molde deberá tener una miga esponjosa, sin zonas almidonosas, su color será uniforme el mismo que dependerá de las harinas empleadas; y no será pegajosa ni desmenuzable. El producto deberá presentar uniformidad en sus dimensiones, forma, volumen y apariencia en general.”

Cada pieza de pan de molde blanco debe presentar la forma de un paralelepípedo rectangular simétrico pudiendo ser convexa la parte superior y con aristas ligeramente redondeadas. La superficie exterior y la corteza deben presentar un color dorado uniforme, en todas sus caras, a excepción de la greña, no deberá presentar manchas ni vetas y deberá tener cierto brillo. La corteza debe ser delgada, y suave. Si el producto se presenta rebanado, el espesor de la rebanada debe ser uniforme.

El color de la miga puede ser blanco, crema o ligeramente amarillo con un matiz uniforme, sin vetas, manchas ni coloraciones. El grano debe ser tal que las celdillas de la miga sean pequeñas y uniformes. La superficie de la miga no debe presentar desgarraduras. Debe presentar un olor

agradable, característico, no debe ser picante ni rancio y un sabor característico y agradable, no debe ser ácido. La textura debe ser suave, firme y no debe ser desmoronable ni pegajoso; no debe ser seco. (NMX-F-159-1983)

### 3.2.1.3. Características Fisicoquímicos

El pan de molde blanco debe cumplir con las especificaciones anotadas en el Tabla N° 2, según lo descrito en la Norma Técnica Mexicana NMX-F-159-S-1983. "Alimentos. Pan blanco de caja".

**Tabla N° 2 Especificaciones Fisicoquímicas del Pan de Molde Blanco**

<b>ESPECIFICACIONES</b>	<b>MINIMO</b>	<b>MAXIMO</b>
<b>Humedad en %</b>	30	38
<b>Cenizas en %</b>	--	2.5
<b>Proteínas (Nx5.7) en %</b>	7	--
<b>Grasa en %</b>	0.8	4
<b>Fibra cruda en %</b>	0.2	0.4
<b>pH</b>	4.5	6.5

**Fuente:** NMX-F-159-1983

Dentro de los parámetros de calidad que también se consideran para el pan de molde blanco es la acidez la cual no será superior al 5 por 100, expresada en ácido láctico, referida a sustancia seca y determinada sobre extracto acuoso. (Boatella, 2004).

#### 3.2.1.4. Características Microbiológicas

El pan de molde blanco debe cumplir con las especificaciones microbiológicas anotadas en la Tabla N° 3, según lo descrito en la Norma Técnica Mexicana NMX-F-159-S-1983. "Alimentos. Pan blanco de caja".

**Tabla N° 3 Especificaciones Microbiológicas del  
Pan de Molde Blanco**

<b>ESPECIFICACIONES</b>	<b>col/g (Máximo)</b>
<b>Cuenta de hongos</b>	50
<b>Cuenta de levaduras</b>	50
<b>Escherichia Coli</b>	Negativo
<b>Organismos coliformes</b>	10
<b>Cuenta total</b>	15000
<b>Cuenta de Staphylococcus aureus</b>	Negativo

**Fuente:** NMX-F-159-1983

El pan de molde no debe contener microorganismos patógenos ni toxinas microbianas que afecten la calidad sanitaria del producto. No debe presentar enmohecimiento, ni mucho menos residuos de insectos, como sus huevos o larvas, o cualquier otra materia extraña que denote su deficiente estado higiénico-sanitario.

Al respecto la legislación peruana establece que según la **NTS N° 071 – MINSA/DIGESA –V.01**. Norma Sanitaria que establece los **Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano**, en el capítulo 8 se menciona los criterios microbiológicos para los productos de panadería, pastelería y galletería, establece como límite máximo  $10^3$  UFC / g para mohos. (Tabla N° 4).

**Tabla. N° 4 Criterios Microbiológicas para Productos de Panadería.**

VIII. PRODUCTOS DE PANADERIA, PASTELERIA y GALLETERIA.						
VIII. Productos de panadería y pastelería con o sin relleno y/o cobertura que no requieran refrigeración (pan, galletas y panes enriquecidos o fortificados, tostadas, bizcochos, panetón, quesques, galletas, obleas, otros)						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	$10^2$	$10^3$
Escherichia coli (*)	6	3	5	1	3	20
Staphylococcus aureus (*)	8	3	5	1	10	$10^2$
Clostridium perfringes (**)	8	3	5	1	10	$10^2$
Salmonella sp. (*)	10	2	5	0	Ausencia / 25g	----
(*) Para productos con relleno.						
(**) Adicionalmente para productos con relleno de carne y/o vegetales.						

### 3.2.1.5. Mecanismos de Alteración

La fuente más habitual de alteración microbiológica del pan es el crecimiento de mohos. Menos frecuente, pero responsable de problemas cuando el clima es cálido, es la alteración bacteriana conocida como “ahilamiento” o pan filante, debida al crecimiento de especies de *Bacillus*. Sin embargo, existen factores de toda índole, internos y externos, que influyen en el deterioro de los productos de panadería.

De los factores internos, propios de la composición de la formulación y de la masa, caben destacar la acidez asociada al pH, el contenido en humedad, la actividad del agua, la composición del producto en cuanto al contenido en proteínas, azúcares y grasas, además de factores asociados a la formulación por la presencia o no de conservantes y reguladores del pH.

Por otra parte, los factores externos son todos los relacionados con el medio ambiente que rodea al producto y que a su vez condiciona el comportamiento del mismo, tales como si tiene mucha humedad, si no tiene la acidez necesaria o los conservantes específicos y en sus dosis óptimas. (Tejero, 2005).

El pH de los alimentos es muy importante para controlar la descomposición microbiológica, los panes y bollos tienen dos componentes principales, grasas y almidón. Las grasas pueden degradarse fundamentalmente por hidrólisis y posterior degradación de los ácidos grasos a glicerol y mezclas de ácidos grasos que producen enranciamiento y amargor. El almidón y, en general, los carbohidratos, pueden descomponerse por hidrólisis o por fermentación a ácidos orgánicos, anhídrido carbónico y alcohol, produciendo un sabor agrio o acidificado.

Los panes, en general, y todos los productos horneados, al salir del horno están exentos de mohos tanto en su forma vegetativa como en esporas. Sin embargo, inmediatamente después se convierten en un medio de cultivo óptimo sobre el que se depositan las esporas que se encuentran en el aire. Esta contaminación es más propensa en aquellos lugares de concentración alta de polvo o de harina.

Desde la germinación de una espора hasta la formación de una colonia, si el medio es favorable, transcurren de dos a tres días. Los hongos del pan son de vida vegetativa y aerobia, es decir, necesitan oxígeno para reproducirse, por eso es frecuente que los hongos proliferen primero en la corteza que es la zona más expuesta al aire que contiene el envase.

Es en la etapa de enfriamiento donde se contamina el pan. Si el pan se distribuye sin envasar, los conservantes no serían necesarios debido a que no se dan las condiciones fisiológicas para el desarrollo del moho. Si el producto se envasa, las condiciones en el interior de la bolsa son muy favorables para el desarrollo de las típicas colonias de moho. (Boatella, 2004).

Son varios los factores que originan el enmohecimiento del pan de molde, sin embargo pasaremos a describir los que se presentan con mayor frecuencia en la industria de alimentos, así pues tenemos que el contenido de humedad en el pan de molde es una condición básica para el crecimiento de mohos. El pan de molde ha de contener una humedad máxima del 38%. Si sobrepasa este porcentaje el medio es más favorable para la aparición de mohos. En el contenido de humedad del pan influyen la cantidad de agua aportada en el amasado, el tiempo de cocción, así como la temperatura del horno.

Una vez sale el pan del horno, las mejores condiciones de enfriamiento son en una sala climatizada a 20° C y 65% de humedad. Alcanzada en el interior del pan la temperatura 33° C, ya se puede empaquetar. Si la temperatura es superior a ésta, se produce una condensación gradual sobre la superficie de la bolsa, que será posteriormente un caldo de cultivo apropiado para el desarrollo de los hongos.

El pH del pan, con valores entre 5,7 y 5,9 o superiores, facilita la proliferación microbiana, no solamente la producida por mohos sino también por ahilamiento. La reducción del pH por fermentación prolongada o por la adición de algunos reguladores del pH favorece un tiempo mayor de conservación. Por otro lado, los conservantes tienen su máxima actividad en un medio ácido.

La adición de antimoho en el pan de molde, como los propionatos sódico y cálcico, así como los sorbatos potásico y cálcico retrasa el crecimiento de hongos. La temperatura ambiente también influye en el crecimiento superficial de hongos, siendo la temperatura óptima para su desarrollo la de 30° C. Conociendo este dato hay que mantener el pan, en la medida de lo posible, a temperatura en torno a 20° C.

### **3.2.2. ELABORACION DEL PAN DE MOLDE BLANCO**

#### **3.2.2.1. Sistemas de elaboración**

La industria panadera trata de producir pan con los atributos deseados para un mercado determinado, con el método más eficiente posible. Todos los procesos conducentes a la elaboración del pan leudado biológicamente requieren tanto de la combinación de harina con otros ingredientes en la masa como de modificar sus propiedades físicas para



optimizar la retención del gas durante la fermentación y la expansión del mismo durante el horneado. Entre los atributos de calidad apreciados por el consumidor se incluye frescura, suavidad y sabor; el productor contempla además algunas características internas y externas, tales como volumen, textura y grano. (A.A.P.P.A., 2003).

Existen tres sistemas generales de elaboración de pan que vienen determinados principalmente por el tipo de levadura utilizado (Tejero, 1995), son los siguientes:

**a. Método Directo:**

Es el menos frecuente a nivel industrial y se caracteriza por utilizar exclusivamente levadura comercial. No es útil en procesos mecanizados con división automática volumétrica. Generalmente, el método directo es el más empleado por pequeñas panificadoras.

Es un proceso de una sola etapa en el cual todos los ingredientes se mezclan juntos en un solo lote. En este caso el mezclado es continuo hasta que la masa adquiere una apariencia suave y un carácter elástico óptimo. El orden en el que se añaden los ingredientes a la mezcladora en la masa directa puede variar considerablemente y depende principalmente de las preferencias del operador individual.

Después del mezclado, la masa se somete a fermentación durante la cual se “poncha” una o varias veces para eliminar el gas; esta etapa fluctúa entre dos y tres horas. La masa se divide en porciones con un peso determinado, se bolean y se depositan en moldes; posteriormente se efectúa una fermentación para incrementar su volumen; una vez que se alcanzado el volumen necesario se procede al horneado. (A.A.P.P.A., 2003).

El método es muy sensible al tiempo; con lotes grandes, esto puede representar un problema ya que el primer lote recibe una fermentación óptima, mientras que el último alcanza una sobre fermentación.

Las ventajas asociadas al método de la masa directa son: menor tiempo de procesamiento, menores requerimientos de trabajo, energía y equipo en general y menor tiempo de fermentación. (Tobías, 2007)

**b. Método Mixto:**

Es el sistema más frecuente en la elaboración de pan común. Utiliza simultáneamente masa madre (levadura natural) y levadura comercial. Requiere un reposo previo a la división de la masa de sólo 10–20 minutos. Es el más recomendable cuando la división de la masa se hace por medio de divisora volumétrica. (Mesas y Alegre; 2002).

### c. Método Esponja - Masa

Es el sistema universalmente empleado en la elaboración de pan francés y sobre todo en la de pan de molde. Este método consta de dos etapas.

En la primera (**esponja**) se mezcla una parte de los ingredientes (harina, agua y la totalidad de la levadura comercial) sin desarrollar totalmente el gluten; sólo lo suficiente para que la esponja retenga el gas producido y se les somete a una fermentación preliminar de aproximadamente 3 a 6 horas para formar la esponja. En la segunda (**masa**) se adicionan a la esponja los ingredientes restantes, se mezclan hasta el punto de desarrollo del gluten y se someten a una segunda fermentación, de duración relativamente corta de 60 a 90 min, a partir de ahí se procede como en el método directo. Este método requiere harinas fuertes.

Entre las ventajas que ofrece este sistema de elaboración tenemos: Un ahorro en el uso de la levadura, nos otorga un mayor volumen de pan más ligero y mejor aireado, este método nos permite reducir pérdidas debido a contratiempos en los programas de producción. Entre las desventajas tenemos que se requiere de mano de obra adicional, produce mayor fermentación y pérdidas por evaporación, un mezclado insuficiente hace a las masas difíciles de dividir y laminar.

### 3.2.2.2. Funciones y Características de los Insumos

Según Bileux y Escoffier. (1990), los ingredientes principales para la elaboración del pan son:

#### a. Harina de Trigo

Es un producto triturado obtenido de la molienda del grano de trigo, *Triticum vulgare*. Los productos finalmente triturados de otros cereales deberán llevar el nombre genérico de la harina del cual proceden, harina de centeno, harina de cebada y de maíz. En la mayoría de las formulaciones de pan se emplea harina de trigo debido a que este cereal confiere propiedades únicas a los productos de panificación. En la Tabla N° 5, se muestra la composición media de las harinas panificables.

**Tabla N° 5 Composición media de una Harina Panadera**

<b>ELEMENTOS</b>	<b>CANTIDAD</b>
<b>Humedad</b>	13 – 15 %
<b>Proteínas</b>	9 – 14 % (85% gluten)
<b>Almidón</b>	68 – 72 %
<b>Cenizas</b>	0.5 – 0.65 %
<b>Materias Grasas</b>	1 – 2 %
<b>Azúcares fermentables</b>	1 – 2 %
<b>Materias celulósicas</b>	3 %

Fuente: Mesas y Alegre; 2002.

La harina proporciona la estructura o base para los productos horneados debido a la formación del gluten. Las proteínas de la harina de trigo, insolubles en agua como son la gliadina y la glutenina (que representan el 80% del total de las proteínas) se hidratan al mezclarse con agua formando así el gluten; sustancia responsable de la retención del gas en los productos de panificación leudados con levadura. El almidón de trigo también tiene un papel importante en la formación de la estructura cuando se gelatiniza durante el horneado. Los gránulos de almidón se hinchan y rompen a una temperatura entre 60° y 82.2°C durante el proceso de horneado, absorbiendo toda el agua disponible y aumentando su volumen. Es en este punto donde el producto cambia de estado de una masa viscosa y elástica a un producto horneado más rígido.

Las harinas para pan se obtienen del trigo duro por su contenido de proteínas y por la calidad de las mismas. El contenido proteico de las harinas que comúnmente se usan para elaborar panes blancos oscila entre 11 y 13%. La calidad de la proteína se mide por la capacidad del gluten de expandirse apropiadamente y de retener el gas producido durante la fermentación, dando como resultado un producto adecuadamente crecido.

Las principales propiedades de la harina son las siguientes:

**Fuerza:** es la medida de la harina para producir una pieza de pan de buen volumen, con miga fina y consistente.

**Tolerancia:** es la posibilidad que tiene la harina de soportar un proceso de fermentación durante un tiempo superior al que normalmente es requerido para alcanzar el grado correcto de maduración. Este depende de la naturaleza de los trigos, de su procedencia, de la eficacia del sistema de limpieza del trigo, del grado de extracción y del uso de tratamientos químicos para su blanqueamiento.

**Alta absorción:** es la capacidad que tienen las harinas para absorber la máxima cantidad de humedad, lo cual conlleva a obtener masas consistentes y de buena calidad. Un pan mantendrá en mejores condiciones sus características organolépticas (especialmente la consistencia y la blandura), mientras mayor sea la absorción – retención de agua que tenga la harina.

## **b. Agua**

La calidad del agua usada en la elaboración de pan, tendrá grandes efectos sobre la calidad del producto final; sin embargo el agua que se

emplea para la elaboración de pan se recomienda que sea un agua de dureza media (50 – 100 ppm) ya que algunas de las sales minerales que en ella se encuentran, darán fortaleza al gluten y servirán posteriormente como alimento para las levaduras.

El agua permite la hidratación de los ingredientes secos, siendo esta su función principal dentro del proceso panificador. Se combina con las proteínas de trigo, gliadina y glutenina, para formar el gluten. También actúa como solvente y / o agente dispersante de los otros ingredientes como sal, azúcar, leche, etc. El agua también es necesaria para la gelatinización del almidón durante el proceso de horneado.

La proporción de agua usada con relación a la harina, denominada absorción, gobierna las propiedades reológicas de la masa (movilidad, plasticidad, extensibilidad y pegajosidad) y determina en gran medida la calidad del producto final. El rango de absorción de agua en la mayoría de los panes está entre un 55 y un 65% del peso de la harina. Dado que el agua es el segundo ingrediente en cuanto a su cantidad en la formulación de la masa, también se usa para ayudar a controlar la temperatura de la masa terminada.

### c. Levadura

Se entiende por levaduras un grupo particular de hongos unicelulares caracterizados por su capacidad de transformar los azúcares mediante mecanismos reductores y oxidantes. Para la fermentación de masas primarias se emplean del genero *Saccharomyces cerevisiae*.

Su función principal es fermentar la masa, produciéndose gas CO<sub>2</sub> (dióxido de carbono). Otros subproductos de la fermentación de la levadura son el alcohol, los ácidos y la generación de energía (calor), elementos que acondicionan bioquímicamente la harina (madurando y suavizando la proteína) y también al desarrollo del sabor en el producto terminado. El nivel promedio de levadura en la mayoría de los panes es del 2 al 5% del peso de la harina (levadura fresca).

La actividad de la levadura se controla en la panificación principalmente regulando el tiempo y la temperatura, aunque la fuente de alimento, el agua y el pH de la masa también afectan el nivel de actividad de la levadura. Entender los factores que influyen en la actividad de la levadura, le permite al panificador ejercer un mejor control sobre la fermentación.



#### **d. Grasa**

La grasa actúa como lubricante para la expansión de las celdas en la masa dando como resultado la formación de una estructura de miga más fina, al igual que una textura más suave y un mayor volumen del producto terminado. Este efecto lubricante también se nota en la máquina rebanadora en donde facilita el corte del producto final. La grasa contribuye igualmente a la retención de la humedad, la cual prolonga la duración y contribuye con una corteza más tierna. Los niveles normales de consumo de grasa para la mayoría de los panes son de 0 a 5% del peso de la harina (de 2 a 3% en promedio para los panes blancos de molde).

Los lípidos actúan como emulsionantes, ya que facilitan la emulsión, confiriéndole a la masa mayor estabilidad respecto de aquella que se puede obtener solamente con proteínas.

El tipo de grasa presente en el pan puede tener diferentes orígenes, ya sea animal como manteca de cerdo y mantequilla o vegetal como aceites y margarinas.

#### **e. Sal**

Contribuye al producto terminado y resalta su sabor. Los niveles inferiores al 1.5% del peso de la harina, dan como resultado un sabor suave, mientras que los superiores al 2.5% dan un sabor salado. A medida que aumenta el nivel de sal en la formula, se ejerce un efecto de retardo sobre la actividad de la levadura. Este efecto se produce por un aumento en la presión osmótica sobre las células de la levadura. La sal también tiene un efecto endurecedor sobre el gluten durante la etapa de mezclado de la masa.

La sal de cocina o cloruro de sodio constituye un elemento indispensable para la masa del pan; sus funciones principales son dar sabor al producto y ayuda a blanquear la miga del pan. Es importante para la fijación del agua en el gluten, también aumenta el poder de absorción y mejora la retención de humedad. La evolución de la fermentación es controlada por la sal.

Los niveles de sal usados de manera normal en la mayoría de los panes oscilan entre 1.75 y 2.25%, del peso de la harina.

## **f. Azúcar**

El azúcar sirve como alimento para la levadura. Se considera que ésta es su función principal en el proceso de elaboración del pan. Los azúcares que son fermentables se consumen durante el proceso de fermentación.

Los azúcares que permanecen en el producto después de haber cesado la actividad de la levadura se denominan azúcares residuales. Estos contribuyen con el color de la corteza mediante las reacciones de caramelización y tostado. El sabor (dulce) también es el resultado de los azúcares residuales. El nivel de azúcar usado en las masas de pan puede variar de 0 a 12%, del peso de la harina.

El azúcar presente en la masa puede tener cuatro orígenes: (1) Los presentes en la harina, de los cuales únicamente el 1% tiene capacidad de fermentar. (2) La maltosa, azúcar derivada de la acción de la alfa amilasa, sobre el almidón presente en la harina; esta clase de azúcar es más susceptible de fermentar. (3) La lactosa, azúcar no susceptible de fermentar procedente de la leche, está presente en la formulación de muy pocos tipos de pan. (4) Azúcares añadidos. Entre estos el obtenido de la caña es el que generalmente se adiciona a las masas de pan.

### **3.2.2.3. Etapas de elaboración del Pan de Molde Blanco**

#### **a. Recepción de insumos**

La recepción de todos los productos se realiza del mismo modo, variando sólo el control de la temperatura de la mercancía que se efectúa a los productos que deben mantenerse a temperatura regulada. La materia prima se deposita ordenadamente en los anaqueles y se agrupan en función a sus características de uso, para evitar la contaminación con el medio ambiente.

La harina es la principal materia prima y no podrá tener contacto directo con el ambiente. Es importante realizar un análisis de calidad a la harina recepcionada los cuales deben incluir criterios técnicos como: Humedad, Alveograma, Fuerza panadera (W), Tenacidad (T), Extensibilidad (L), Degradación (W), Índice dilatación (G), así como también verificar los criterios microbiológicos vigentes en la norma.

## **b. Dosificado**

Se pesan todos los insumos alimentarios para cada Bach o lote de producción según la formulación establecida. El Bach está compuesto por dos pesadas diferentes, para cada etapa de proceso (mezclado I, mezclado final), una vez pesado se colocarán en las jabas codificándolos según el tamaño del lote y tipo de producto, luego son ordenadas según la lista a producir y colocados en las carretas para su posterior paso.

## **c. Mezclado I (Esponja)**

Se mezclan parte de los insumos, en general, la esponja comprende de 67 a 70% del total de la harina usada con aproximadamente 40% de agua (con base en 100 partes de harina), el total de la levadura, alimento para levadura y acondicionadores de masa. También puede agregarse un bajo porcentaje de jarabe de malta o azúcar para acelerar el proceso de fermentación. (A.A.P.P.A., 2003).

La esponja debe mezclarse hasta adquirir una consistencia regularmente firme; una esponja apretada se sostendrá mejor, se expandirá a mayor volumen y producirá un desarrollo más adecuado de gluten.

#### **d. Fermentado I**

El objetivo de esta etapa es incrementar la reproducción de las levaduras para obtener una textura ligeramente pegajosa y darle las características organolépticas al producto final. Durante esta etapa la esponja aumenta su volumen a razón de 4.5 veces. Al final de esta etapa se debe realizar un control de la acidez y pH, así como de temperatura de la masa que debe ser de 31 °C.

Los azúcares nativos de la harina son el sustrato para la fermentación durante la primera hora. Cuando estos se han agotado, el sistema enzimático de la levadura comienza su actividad, fermentando la maltosa producida por la acción hidrolítica de las amilasas sobre los gránulos de almidón dañado, presentes en la harina. Numerosos productos metabólicos son secretados por la levadura en la fase acuosa de la esponja durante la fermentación, tales como alcoholes, bióxido de carbono, ácidos orgánicos, aldehídos, etc. Otras reacciones contribuyen a la suavidad que incluyen la acción de proteasas y amilasas sobre sustratos específicos. Durante la fermentación de la esponja, se desarrolla un complejo lipoproteico (gluten) en el cual los gránulos de almidón quedan embebidos; dicho complejo es capaz de retener el gas. (A.A.P.P.A., 2003).

#### **e. Mezclado Final (Masa)**

Durante la operación de mezclado y formación de la masa, suceden dos eventos importantes: la esponja y los demás ingredientes se mezclan en una masa uniforme y las proteínas del gluten se desarrollan en una fase continua. El procesamiento exitoso de la masa y la consecuente calidad del pan se relaciona directamente con el desarrollo adecuado de la masa. La duración del mezclado y, por lo tanto, la cantidad de energía mecánica aplicada a la masa, depende de factores incluyendo la fuerza y absorción de agua de la harina, la formulación empleada y las características de diseño de la mezcladora.

El mezclado de la masa atraviesa por varias etapas: durante la primera, las proteínas de la harina, el almidón y otros componentes se hidratan y los ingredientes se disuelven o dispersan en la fase acuosa. En esta etapa la masa aparece húmeda y completamente pegajosa, carece de cohesividad. Con la continuidad del mezclado, la masa se hace más cohesiva y lisa, con una menor tendencia de adherirse a las paredes del tazón de la mezcladora. Posteriormente, se llega a un punto en que esta es elástica y cohesiva (atributo propio del gluten de trigo).

El propósito del mezclado es rotar la masa alrededor del agitador, de tal manera que la masa sea continuamente lanzada, presionada y sujeta a la

acción de corte que resulta en el desarrollo deseado del gluten. El calor de fricción generado por este movimiento puede disiparse por medio de una chaqueta refrigerada en la batidora, o bien, adicionar el agua de la formulación a 4 °C. La temperatura de la masa al final del ciclo de mezclado debe ser 27 °C. La materia grasa se adiciona cuando la masa adquiere consistencia. (A.A.P.P.A., 2003).

Debe evitarse un sobremezclado de la masa, que daría como resultado una masa pegajosa y cuyos productos tendrían un volumen reducido. Cuando las masas tienen un mezclado insuficiente son difíciles de dividir y laminar, obteniéndose un producto con un grano abierto y áspero.

#### **f. División**

La masa es depositada en una máquina divisora calibrada al peso deseado, de acuerdo con el molde empleado. El tiempo es de vital importancia en la máquina divisora. Los lotes individuales de masa deben limitarse a volúmenes que puedan dividirse entre 15 y 20 minutos. Las masas que se retienen por un tiempo prolongado antes de dividirse pueden sufrir un notable aumento de temperatura antes de pesarse. La masa caliente tiende a desarrollar una pronunciada pegajosidad exceso de gas, lo que puede resultar en una dificultad mayor para mantener un peso constante.



#### **g. Boleado**

Es función de la boleadora formar una pieza de superficie tersa y relativamente seca para minimizar la difusión de gas y humedad. La masa debe tener un balance adecuado de propiedades viscoelásticas para conservar su forma. El boleado “activa estructuralmente” la masa y así mejora la estabilidad y elasticidad. Las boleadoras de las plantas industriales son básicamente de tres tipos: forma de cono, de sombrilla y de cilindro. Con cada tipo, la pieza de masa adecuadamente espolvoreada con harina, se fuerza a rotar en forma continua a lo largo de un canal.

#### **h. Moldeado**

Su objetivo es dar la forma que corresponde a cada tipo de pan. Si la pieza es redonda, el resultado del boleado proporciona ya dicha forma. Si la pieza es grande o tiene un formato especial suele realizarse a mano. Si se trata de barras, que a menudo suponen más del 85% de la producción de una panadería, se realiza por medio de máquinas formadoras de barras en las que dos rodillos que giran en sentido contrario aplastan el fragmento de masa y lo enrollan sobre sí mismo con ayuda de una tela fija y otra móvil. (Mesas y Alegre; 2002).

Para lograr esto se realizan cuatro operaciones diferentes que son: aplanar o laminar la masa, sacar gas a la masa, enrollar la masa previamente estirada dándole forma cilíndrica y finalmente aplicar presión sobre la masa para darle forma larga y redondeada dejándola lista para colocarla en el molde. Esta etapa tiene efectos pronunciados sobre el grano y la textura del pan. Las celdas que se han formado en la masa a lo largo del proceso, se distribuyen uniformemente.

#### **i. Fermentación Final**

Durante la fermentación, la glucosa de la masa se transforma en etanol (el pan fresco contiene más de un 0.3% de etanol) y anhídrido carbónico debido a la acción de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. La producción de CO<sub>2</sub> comienza lentamente y después se acelera debido a la multiplicación de la levadura. Esta formación gradual del gas, resulta deseable, pues un aumento más rápido del volumen de la masa ocasionaría su ruptura. La retención del gas es una propiedad de la proteína de la harina: el gluten, a la vez que debe ser suficientemente extensible para permitir que “suba” la pieza; deberá ser también lo suficientemente fuerte para evitar que el gas se escape con facilidad, lo cual llevaría a que la pieza se colapsara. La interacción de la grasa añadida con los componentes de la harina, logra también un poderoso efecto sobre la retención del gas.

## **j. Horneado**

La conversión de masa a pan tiene lugar durante esta etapa, realizándose una serie de eventos: evaporación de todo el etanol producido en la fermentación, evaporación de parte del agua contenida en el pan, coagulación de las proteínas, transformación del almidón en dextrinas y azúcares menores y pardeamiento de la corteza.

Después de que los trozos de la masa entran al horno, el calor penetra la superficie y se desplaza al interior, produciendo un aumento constante de la temperatura del pan durante la etapa inicial del horneado. Este aumento de temperatura acelera rápidamente la activación de la levadura, produciendo una súbita evolución del gas de dióxido de carbono y la expansión de los gases de la masa.

Durante el desarrollo de la cocción existe una disminución de las moléculas de agua que alcanzan la superficie y luego se evaporan, y por ello existe un gradual aumento de la temperatura sobre la superficie externa lo cual provoca la formación de la corteza, tanto más gruesa cuanto más dure esta fase de la cocción. Además ocurre la volatilización de todas aquellas sustancias que tienen una temperatura inferior a los 100°C y en particular el alcohol etílico y todas aquellas sustancias

aromáticas que se forman tanto en la fermentación, como en la cocción (aldehídos, éteres, ácidos, etc.). (Tobías, 2007).

A causa de la dilatación del gas y del aumento de la tensión del vapor de agua (debido a la temperatura del horno), la masa sufre un rápido aumento de volumen que alcanza su máximo desarrollo después de un tiempo comprendido entre 5 y 10 minutos, variable con el peso, la forma y la calidad de la masa. El desarrollo de la masa está relacionado con cuatro factores: concentración del gas, elasticidad, resistencia de la masa y su capacidad de retener gas.

A una temperatura inferior a los 55°C la levadura continúa activa por lo que la fermentación prosigue; sólo cuando alcanza los 65°C la actividad de la levadura cesa y al mismo tiempo comienza la coagulación del gluten y la parcial dextrinación del almidón. Este se degrada a dextrinas, mono y disacáridos a las altas temperaturas que se expone la parte externa de la masa. También se produce un pardeamiento no enzimático, proporcionando de esta manera el dulzor y el color de la corteza. El aroma de la fermentación está enmascarado por el aroma formado por las reacciones de Maillard y las de caramelización (el 2 – acetil – 1 – pirrolina es el compuesto aromático de mayor importancia). (Tabla N° 6).

**Tabla N° 6. Fenómenos que ocurren en el interior de la  
masa durante la cocción**

<b>Temperatura</b>	<b>Evento</b>
<b>30°C</b>	Expansión del gas y producción enzimática de azúcares.
<b>45-50°C</b>	Muerte de las levaduras.
<b>50-60°C</b>	Fuerte actividad enzimática, inicio de la solubilidad del almidón.
<b>100°C</b>	Desarrollo y producción de vapor de agua, formación de la corteza.
<b>110-120°C</b>	Formación de dextrina en la corteza (Clara y amarillenta).
<b>130-140°C</b>	Formación de dextrina parda.
<b>140-150°C</b>	Caramelización (oscurecimiento de la corteza).
<b>150-200°C</b>	Producto crujiente y aromático (pardo oscuro)
<b>Mas de 200°C</b>	Carbonización de la pieza (masa porosa y negra)

**Fuente:** A.A.P.P.A., 2003

La temperatura de cocción influye sobre otros componentes, como son las vitaminas, en particular la tiamina y la riboflavina cuyo contenido se reduce notablemente.

Los hornos utilizados en panadería pueden ser continuos (hornos de túnel), cuando es posible alimentarlos con una secuencia ilimitada de piezas, o discontinuos cuando una vez cargados con la totalidad de las piezas hay que esperar a que se cuezan para sacarlas e introducir una nueva carga (hornos de solera, hornos de pisos, hornos de carros, etc.). (Mesas y Alegre; 2002).

## **k. Enfriado**

El pan sale del horno con la miga a una temperatura de aproximadamente 98°C y con una humedad de 45% en su centro; la corteza está más caliente, aproximadamente a 150°C, pero mucho más seca (1 – 2% de humedad) y se enfría rápidamente. Durante el enfriamiento, la humedad se desplaza desde el interior hacia la corteza y de aquí al ambiente. Si el contenido de humedad de la corteza sube considerablemente durante el enfriamiento, esta se vuelve correosa, dura y se pierde el atractivo y característico crujido del pan fresco.

El excesivo aumento de sequedad durante el enfriamiento, trae como consecuencia la disminución de peso y malas características de la miga. La tendencia al enfriarlo es por lo tanto, disminuir la temperatura sin gran variación del contenido de humedad.

## **l. Rebanado/Embolsado**

Una vez frías las piezas pasan a la sala de corte y envasado, que debe estar aislada del resto de la fábrica. La temperatura en esta sala debe ser de unos 20 – 22 °C, se aconseja que la renovación de aire sea filtrada. A nivel industrial, se suelen utilizar cortadoras de alta velocidad equipadas con cuchillas sin fin, que dan un corte limpio sin deformar la rebanada.

De aquí pasa el pan a las empaquetadoras automáticas. Son también automáticas y funcionan así; por medio de un sistema soplante se infla la bolsa, y un dispositivo de empuje introduce el pan en la bolsa. Simultáneamente se extrae parte del aire de la bolsa y esta se cierra con un alambre recubierto de plástico. (Gil y Serra, 2010)

### **m. Almacenamiento**

El almacenamiento del pan es un tema de interés para la industria panadera debido a que se trata de un producto relativamente perecedero al que se le añaden a veces ciertas sustancias químicas para que posea una vida media superior.

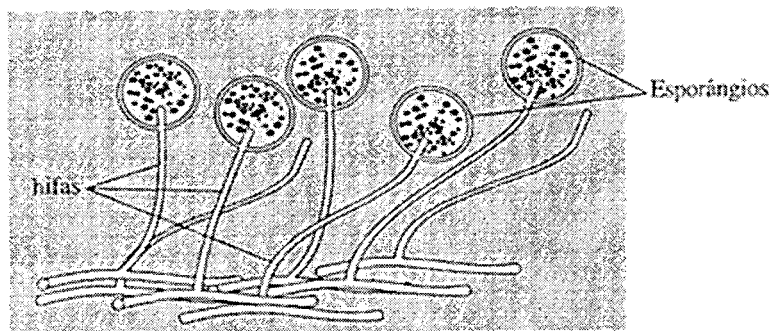
La mejor forma de almacenar el pan de molde es en un lugar fresco y seco, idealmente con poca luz, y a temperatura ambiente. La temperatura óptima es entre 15 y 25 ° C y humedad relativa a 75%, se puede apilar máximo 2 unidades, para evitar el daño por deformación y desmoronamiento. El producto no debe tener contacto directo con el piso en ningún momento. No se debe colocar cerca de sustancias químicas que contaminen el producto con su olor o sabor como detergentes, jabones, aromatizantes, derivados de hidrocarburos (gasolina, ceras, etc.). (COMAPAN, 2011)

### 3.2.3. MOHOS EN LOS ALIMENTOS

#### 3.2.3.1. Generalidades

Los hongos son microorganismos pertenecientes al reino Fungi y se subdividen en mohos y levaduras. Se emplea el término **moho** para describir ciertos hongos multicelulares que forman una red filamentosa denominada micelio, formado de filamentos individuales llamados hifas. (Fig. 1).

**Fig. 1. Colonia de *Aspergillus niger* y sus partes**



Los mohos son ciertos hongos filamentosos multicelulares cuyo crecimiento en la superficie de los alimentos se suele reconocer fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso, a veces pigmentado. La identificación y clasificación de los mohos se basa en observaciones macroscópicas y microscópicas.



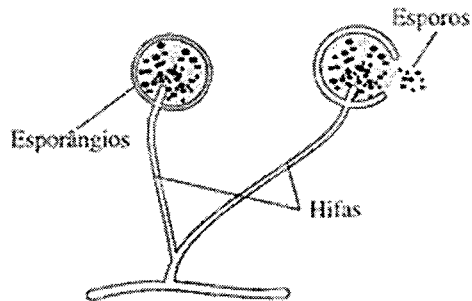
El aspecto macroscópico de todo moho que crece en la superficie de un alimento suele ser suficiente para indicar la clase o el orden a que pertenece. Algunos mohos tienen una textura laxa y un aspecto lanoso, mientras que otros son compactos.

Si bien es cierto que los mohos intervienen en la alteración de muchos tipos de alimentos, determinadas especies de los mismos son útiles en la elaboración de ciertos alimentos o de componentes de los mismos. Así, algunos tipos de quesos son madurados por mohos, como por ejemplo el queso azul, el de Roquefort, el de Camembert, el de Brie, el de Gammelost, etc. (Frazier y Westhoff; 1994).

#### a. Hifas y micelio.

El talo de los mohos está formado por una masa de filamentos ramificados, llamados hifas, llamándose micelio al conjunto de las hifas. Las hifas pueden ser sumergidas o aéreas. También se pueden clasificar en hifas **vegetativas** que tienen la función principal de incorporar los nutrientes para la reproducción del hongo y en hifas **fértiles** por poseer en sus extremidades estructuras reproductoras denominadas esporangios, donde se encuentran las esporas, agentes responsables por su reproducción (Fig. 2).

**Fig. 2. Detalle de una hifa**



La observación microscópica de las hifas de los mohos pone de manifiesto caracteres que son de utilidad para identificar los géneros. Los mohos se dividen en dos grupos: **septados**, es decir, provistos de tabiques transversales que dividen a las hifas, y **no septados cenocíticos**, cuyas hifas están formadas por cilindros sin tabiques transversales. Este tipo de hifas posee núcleos diseminados a lo largo del cilindro y se les denomina multicelular. Las hifas de la mayoría de los mohos son transparentes, aunque algunas son de color oscuro o bien tienen color de humo. (Frazier y Westhoff; 1994).

Determinadas estructuras del micelio o determinados órganos ayudan a identificar a los mohos. Por ejemplo los rizoides o "anclajes" de los géneros *Rhizopus* o *Absidia*, la célula basal del género *Aspergillus* y la ramificación dicotómica, o en forma de Y, del género *Geotrichum*.

## b. Órganos o estructuras reproductoras.

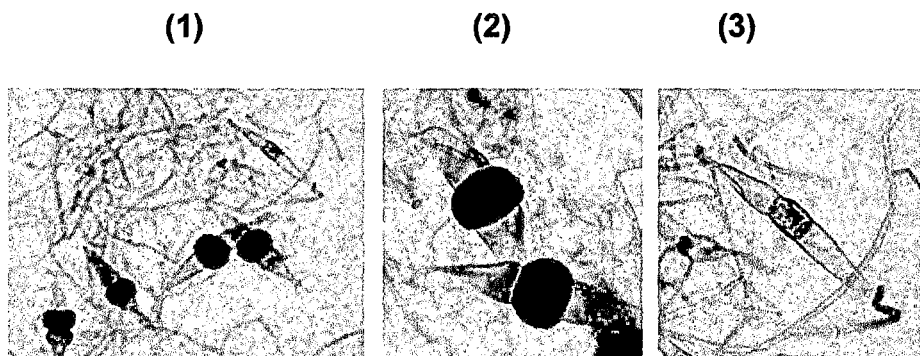
Los mohos se reproducen principalmente por medio de esporas asexuales. Algunos mohos también producen esporas sexuales. A tales hongos se les denomina “perfectos”, los cuales se dividen en *Oomycetes* y *Zygomycetes* si no son septados, o bien en *Ascomycetes* y *Basidiomycetes* si son septados, en contraposición a los mohos “imperfectos”, *Fungi Imperfecti*, los cuales sólo poseen esporas asexuales.

Los mohos producen gran cantidad de esporas asexuales, son pequeñas, ligeras y resistentes a la desecación. Se diseminan fácilmente por la atmósfera para sedimentar y originar el talo de un nuevo moho. Los tres tipos principales de esporas asexuales son: (1) **conidios**, (2) **artrosporas** u **oidios** y (3) **esporangiosporas**. Los conidios se separan, o crecen, en determinadas hifas fértiles denominadas **conidióforos** y generalmente son libres, es decir, no se encuentran dentro de ningún receptáculo, en contraposición a las esporangiosporas, las cuales se encuentran dentro de un **esporangio** o receptáculo, situado en el extremo de una hifa fértil, el **esporangióforo**. Las artrosporas se forman por fragmentación de una hifa.

La reproducción sexual es otra forma de reproducción de los hongos, e implica la unión de 2 núcleos uno donante y otro receptor para formar un núcleo cigótico diploide, que por meiosis origina 4 núcleos haploides. A los hongos con reproducción sexual se los denomina perfectos. La reproducción sexual comprende 3 fases:

(1) **Plasmogamia**, en ella se unen los dos protoplastos de las hifas y los dos núcleos se reúnen en una sola célula. (2) **Cariogamia**, fusión de los dos núcleos que se habían reunido en la plasmogamia. (3) **Meiosis**, se reduce el número de cromosomas, se forman gametos haploides. Fig. (3)

**Fig. 3. Reproducción sexual de los mohos**



**Fuente:** Piña, 2010

Después de la fusión de los núcleos de las dos células: hifas o levaduras que comparten el ADN y de ocurrida la meiosis se forman las esporas con características heredadas de cada uno de sus progenitores. Cada espora tiene capacidad para desarrollar una nueva colonia. (Piña, 2010)

Los tipos de esporas producidos por reproducción sexual son: (1) **Ascosporas**, que son unicelulares, generalmente se desarrollan 4 a 8 dentro una célula denominada **asca**. (2) **Basidiosporas**, que son unicelulares, se forman en células llamadas **basidios** en número de 4. (3) **Zigosporas**, que son de mayor tamaño con pared celular gruesa se desarrollan al fusionarse dos hifas sexualmente compatibles y (4) **Oosporas** las cuales se forman por la unión de dos células gaméticas, **oogonio** y **anteridio**. En condiciones óptimas para la germinación, las oosporas dan origen a micelio y esporangios los cuales infectan las plantas. (Piña, 2010).

### c. **Propiedades fisiológicas.**

En comparación con la mayoría de las levaduras y de las bacterias, la mayoría de los mohos necesitan menor cantidad de humedad disponible. Un porcentaje total de humedad por debajo del 14 al 15 por ciento en la harina o en algunos frutos secos impedirá o retardará mucho el crecimiento de los mohos.

Los mohos podrían considerarse mesófilos, es decir, que son capaces de crecer bien a temperaturas normales. La temperatura óptima de la mayoría se encuentra alrededor de los 25 a 30°C, aunque algunos son psicrótrofos y algunos son termófilos.

Son aerobios, esto es cierto por lo menos en los mohos que crecen en la superficie de los alimentos. Casi todos los mohos son capaces de crecer dentro de un amplio intervalo de pH (pH comprendido entre 2 y 8.5), aunque la mayoría crece mejor a pH ácido.

Son capaces de utilizar muchos tipos de alimentos, que van desde sencillos a complejos. Poseen enzimas hidrolíticas, y de aquí que algunos se utilicen para la producción industrial de las amilasas, pectinasas, proteasas y lipasas.

### **3.2.3.2. Crecimiento de mohos**

Los mohos son organismos heterotróficos portadores de esporas, que se transcriben de manera sexual y asexual; con estructuras somáticas, ramificadas y filamentosas rodeadas por paredes celulares bien definidas con quitina y celulosa. Tienen crecimiento característico y usualmente producen ramificaciones laterales. La hifa está formada por una pared delgada transparente tubular, las hifas se fusionan formando un arreglo tridimensional llamado micelio (Burnett, 1976 citado por Martínez V., M. 2008).

Las paredes celulares de los mohos maduros son extremadamente rígidas resistiendo los ataques enzimáticos; protegiendo al protoplasto del

daño por condiciones extracelulares. La reproducción es la formación de nuevos seres o formas que poseen todas y las mismas características de la especie de la cual provino. Se conocen dos tipos de reproducción sexual y asexual, esta última es a través de esporas. Una espora es una unidad estrechamente diminuta, que se propaga sin un embrión y que sirve para la producción de una nueva unidad de la misma especie (Gimeno, 2001 citado por Martínez V., M. 2008).

Los conceptos de germinación y latencia de esporas mantienen una relación estrecha y no pueden ser tratados de forma aislada. En muchas esporas, salvo aquellas que poseen paredes gruesas e irregulares, el primer cambio radica en el tamaño de la espora y el contenido de nutrientes. Existen además dos tipos de latencia la exógena debida a propiedades innatas de la espora y la constitutiva debida a factores ambientales. Dentro de los factores determinantes en la latencia exógena esta la humedad relativa, pH, materiales tóxicos e inhibidores, temperatura y bióxido de carbono, entre otros (Burnett, 1976 citado por Martínez, M. 2008).

La mayoría de los organismos vivos absorben los materiales externos a través de sus membranas transportándolas a los sitios metabólicos dentro de la célula y la transforman en energía para los procesos biosintéticos de conservación y supervivencia, esto mismo ocurre con los mohos por ser

organismos vivos (Burnett, 1976 citado por Martínez, M. 2008), para que esto se pueda llevar a cabo el principio fundamental es que todos los nutrientes deban ser transportados a través de las dos capas, la membrana citoplasmática y la región comprendida entre ellas. Estas regiones asumen un papel importante en el transporte de nutrientes que algunas veces pueden favorecer al moho y podrá perjudicarlo causando daño sobre la célula.

En las últimas décadas, el avance en el área de la modelación matemática del crecimiento microbiano ha sido significativo, por lo que actualmente es posible estimar el efecto de factores intrínsecos clave tales como la temperatura, la actividad de agua ( $A_w$ ) y el pH sobre el crecimiento de microorganismos patógenos de mayor interés en los alimentos, así como sobre el crecimiento de hongos deteriorativos de alimentos, los cuales, después de las bacterias, son una de las principales causas de la descomposición de alimentos lo que ha despertado el interés por conocer la ecología de estos microorganismos, con la finalidad de controlar su desarrollo en los alimentos, lo que es importante tanto en el aspecto económico como en el de salud pública. (Carrillo, M y col. 2006).

Diferentes factores influyen sobre el desarrollo de los hongos filamentosos, los cuales pueden agruparse como factores intrínsecos, factores extrínsecos, factores de procesamiento, factores microbianos e implícitos y los denominados efectos netos.



Los factores intrínsecos son los factores inherentes al alimento. Incluyen los compuestos naturales que pueden estimular o retardar el crecimiento, también los compuestos añadidos como conservantes, el potencial redox, la actividad de agua y el pH. Los factores extrínsecos o factores ambientales son característicos del medio ambiente donde se almacena el alimento: temperatura, humedad y composición gaseosa.

Los factores implícitos quedan determinados por las relaciones que se establecen entre los microorganismos presentes en el alimento, entre las que se encuentran: la velocidad de crecimiento específica, antagonismo, comensalismo y sinergismo. Existen otros factores considerados de procesos, en la cual el alimento es sometido a tratamientos tecnológicos que modifican la carga inicial y repercuten en la composición final del producto.

De acuerdo con Frazier y Westhoff (2000) existen varios medios que pueden ser útiles para el cultivo de mohos pero el crecimiento siempre presenta las siguientes fases:

- Fase inicial o Lag. El número de microorganismos permanece constante o puede disminuir en número. Esto se debe tal vez a un ajuste en su medio ambiente.

- Fase logarítmica. Los microorganismos aumentan en número debido a que el suministro de alimento es abundante.
- Fase de crecimiento negativo. La multiplicación empieza a disminuir a causa de la disminución en el suministro de nutrientes y la acumulación de productos de desecho que pueden ser tóxicos para el organismo.
- Fase estacionaria. Aquí la tasa de mortalidad se encuentra en equilibrio con la tasa de natalidad lo cual se debe a la disminución de nutrientes y la acumulación de productos de desecho.
- Fase de mortalidad acelerada. La tasa de mortalidad acelerada es mucho mayor y va en aumento conforme se agotan los nutrientes y la acumulación de productos de desecho es muy grande.

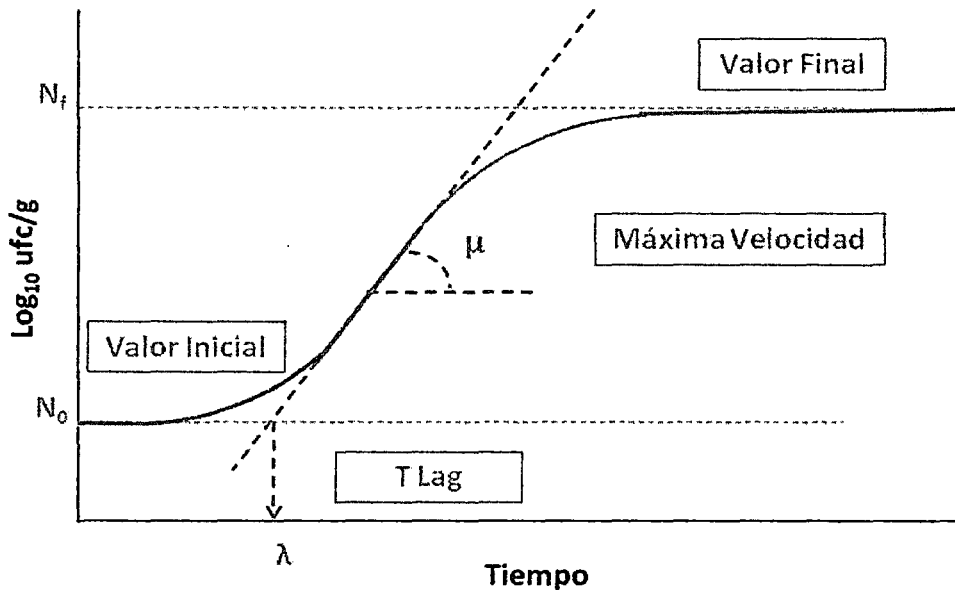
Las curvas de crecimiento nos permiten obtener los parámetros cinéticos de crecimiento propios de los mohos en un medio concreto. Estos parámetros vienen a ser la descripción matemática de su comportamiento que nos permiten evaluar y caracterizar el comportamiento de los mohos en un sustrato y tiempo determinado.

Existen modelos matemáticos que nos permiten estimar la población mohos en función del tiempo. Entre los diferentes modelos matemáticos tenemos a los modelos primarios que tienen como objetivo describir matemáticamente la curva de crecimiento generada por los microorganismos de interés bajo condiciones ambientales definidas con el objeto de estimar los parámetros cinéticos que caracterizan dicha curva: tiempo de latencia, máxima velocidad específica de crecimiento y máxima densidad celular (Cayré y col, 2007).

La propiedad más importante de un modelo primario es que describa de forma adecuada el crecimiento de los microorganismos y permita obtener estimaciones precisas de los parámetros que caracterizan dicho crecimiento (Cayré y col, 2007). Uno de los modelos matemáticos más usados para estimar y ajustar el crecimiento microbiano es el modelo propuesto por Baranyi y Roberts en 1994.

El modelo de Baranyi y Roberts (1994) describe una curva sigmoidea. La diferencia principal entre este modelo y otras curvas sigmoidales como la función modificada de Gompertz, el modelo logístico, etc., es que las interfases son mas lineales que los de aquellas curvas sigmoideas clásicas, las cuales tienen una mayor pronunciación en la curvatura de estas interfases (DMFit, 2009). El modelo de Baranyi y Roberts tiene 4 parámetros principales valor inicial ( $N_0$ ), Tiempo de latencia ( $\lambda$ ), velocidad máxima ( $\mu_{max}$ ) y el valor final ( $N_{max}$ ) (Fig. N° 4).

**Fig. N° 4 Parámetros cinéticos de crecimiento bacteriano en una curva típica: Modelo Baranyi and Robert, 1994**



Carrillo y col (2007), uso el modelo de Baranyi para ajustar las curvas de crecimiento del hongo *Rhizopus oryzae* generadas a diferentes condiciones de crecimiento (Temperatura, Actividad de Agua y pH). Dichas curvas se obtuvieron al graficar el diámetro de las colonias contra el tiempo y el modelamiento permitió obtener los parámetros de crecimiento (velocidad específica de crecimiento, tiempo de latencia y crecimiento máximo).

La expresión matemática del modelo de Baranyi y Roberts (1994) es:

$$y(t) = y_{max} + \ln \left[ \frac{-1 + \exp(\mu_{max} \cdot \lambda) + \exp(\mu_{max} \cdot t)}{-1 + \exp(\mu_{max} \cdot t) + \exp(\mu_{max} \cdot \lambda + y_{max} - y_0)} \right]$$

Donde:

$y(t) = \ln N(t)$ , siendo  $N(t)$  la densidad de mohos (ufc.g<sup>-1</sup>) al tiempo  $t$

$y_0 = \ln N_0$ , siendo  $N_0$  el valor asintótico inferior y aproximadamente igual a la densidad de mohos inicial (ufc.g<sup>-1</sup>).

$y_{max} = \ln N_{max}$ , siendo  $N_{max}$  el valor asintótico superior y aproximadamente igual a la máxima densidad de mohos (ufc.g<sup>-1</sup>).

$\mu_{max}$  = máxima velocidad específica de crecimiento (tiempo<sup>-1</sup>) o tasa de mortalidad máxima (letalidad) en caso de una curva de supervivencia.

$\lambda$  = tiempo de latencia o retraso (tiempo). Definida generalmente como la intersección entre la tangente a la fase de crecimiento exponencial y el valor inicial.

### 3.2.3.3. Intoxicaciones Alimentarias por Mohos

La enfermedad llamada genéricamente micotoxicosis puede ser provocada por mohos productores de toxinas activas al entrar al organismo por vía oral. Muchos mohos son productores de sustancias proteicas de bajo peso molecular y acción tóxica conocidas como micotoxinas. Elevadas ingestiones de micotoxinas pueden producir cuadros agudos fácilmente detectables; pero estos casos son raros, es más frecuente la intoxicación por bajas dosis de micotoxinas que pueden producir intoxicaciones crónicas con efectos oncogénicos o inhabilitantes en diferentes órganos como hígado, riñón y cerebro.

Las micotoxinas pueden ingerirse por contaminación con mohos en alimentos de baja actividad de agua como quesos, mermeladas, alimentos curados, cereales, panes. En el caso de animales, estos pueden ingerir las micotoxinas en los piensos y forrajes lo que puede causar intoxicaciones crónicas en el animal y pueden transmitir las toxinas a través de sus productos como huevos o leche.

El desarrollo del moho hace al pan incomedible, no solo por las alteraciones de sus características organolépticas, sino sobre todo a causa de una toxina producida por el *Aspergillus*, que es nociva para la salud humana y que produce tumores en el hígado.(Quaglia, 1991)

Debido al bajo peso molecular las micotoxinas suelen ser muy termoresistentes y pueden difundirse grandes distancias en los alimentos por lo que tratamientos térmicos suelen ser inefectivos y la simple eliminación del moho no evita la micotoxina, ya que es crecimiento superficial pero los productos de su actividad (micotoxinas) pueden difundirse al interior del producto.

Es por esto que existe una gran preocupación por la actividad toxigenica de los mohos considerados beneficiosos presentes en algunos alimentos (queso, embutidos).

En la edición N° 12 de la Revista Panera publicada on- line mencionan el gran número de especies distintas de mohos capaces de proliferar en la superficie del pan, pero los que con más frecuencia se encuentran son:

- *Penicillium glaucum* (hongo común), *Penicillium expansum* (producen esporas verdes), y otras especies del género *Penicillium*.
- *Rhizopus nigricans*, vulgarmente llamado moho del pan, que presenta un micelio blanco de aspecto algodonoso con esporangios negros.

- *Aspergillus niger*, con conidias cuyo color varía de verdoso a negro y que produce un pigmento amarillo que se difunde en el pan. Otras especies del género *Aspergillus*, como *Aspergillus glaucus* y *Aspergillus nidulans*, etc.
- *Neurospora sitophila*, color rojo-naranja, es frecuente cuando el pan está mal cocido o se ha empaquetado caliente.
- *Oidium auriantacum*, que produce manchas de color naranja.
- *Mucor mucedo*, de color blanco en la primera etapa, que se va oscureciendo hasta llegar a ser negro-marrón.
- *Monilia variabilis*, que produce en el pan la llamada enfermedad del yeso, que se exterioriza en que la miga del pan parece que tiene esa consistencia.

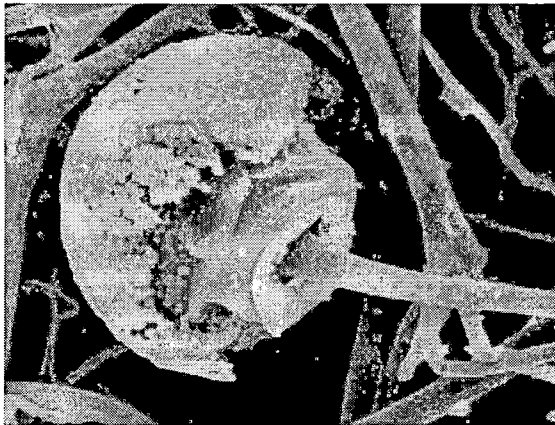
#### **3.2.3.4. Rhizopus stolonifer.**

Rhizopus stolonifer (moho negro del pan) es un hongo ampliamente distribuido. Comúnmente se encuentran en las superficies de pan, se alimenta de los nutrientes del pan. Otros sinónimos de este moho son: *Rhizopus artocarp*, *Rhizopus niger*, *Rhizopus nigricans*.



Es un hongo filamentoso que presenta esporangióforos sin ramificar (de hasta 2 mm x 20  $\mu$ m), de color pardo oscuro que nacen de un nudo de rizoides bien desarrollados. Esporangios esféricos negros (de hasta 275  $\mu$ m de diámetro) con columela. (Fig.5). Esporangiosporas negras de 8 a 15  $\mu$ m. Abundantes rizoides y zigosporas esféricas de pared gruesa, desnuda (de hasta 200  $\mu$ m de diámetro). Clamidosporas ausentes.

**Fig. 5. Esporangio de *Rhizopus stolonifer*.**



**Fuente:** Ponton y col., 2002

Las esporas asexuales se forman dentro de esporangios, que se rompen para liberar las esporas maduras. La germinación de estas esporas forma las hifas haploides de un nuevo micelio. *R. stolonifer* crece rápidamente a temperaturas entre los 15 y los 30 ° C. (Ponton y col., 2002).

Colonias de crecimiento rápido (cubren prácticamente toda la superficie de la placa en tres días a 25 °C) de aspecto consistente, con denso

micelio aéreo, algodonosas, al principio blancas, después gris oscuras (micelio rojizo, grisáceo o marrón). Se reconoce fácilmente por sus espolones hialinos o parduzcos, sus rizoides numerosos y pardos y sus esporangios negros y lustrosos (brillantes).

*Rhizopus stolonifer* es uno de los mucorales más frecuentes y tiene una distribución amplia en todo el planeta. Su temperatura de crecimiento va desde los 10 hasta los 33 °C, con una temperatura óptima de 25 °C. Se encuentra con frecuencia en suelos con arena, en el compost, en el polvo de las casas, en la pulpa de la madera, estiércol, panales de abejas, nidos y plumas de aves y en diferentes frutos y semillas. (Ponton y col., 2002).

Las esporas de estos hongos no son abundantes en el aire libre, aunque su frecuencia aumenta en lugares donde hay humedad y se acumula vegetación muerta. La exposición a concentraciones elevadas de esporangiosporas de *Rhizopus* se ha descrito como causa de alveolitis alérgica extrínseca (pulmón de serrador) en serrerías suecas.

Se ha observado una pequeña proporción de pacientes con reactividad cutánea a *Rhizopus stolonifer*. Puede ser un patógeno oportunista en personas inmunosuprimidas y se han descrito casos de micosis rinocerebrales en diabéticos. (Ponton y col., 2002).

#### **3.2.4. AGENTES ANTIMICROBIANOS.**

Los antimicrobianos son compuestos añadidos o presentes en los alimentos que retardan el crecimiento microbiano o inactivan a los microorganismos y por lo tanto detienen el deterioro de la calidad y mantienen la seguridad del alimento (Baltasar, 2003 citado por Martínez, M. 2008).

El uso de agentes químicos, como antimicrobianos, es uno de los métodos de conservación más antiguos y tradicionales que existen, sin embargo, no cumplen con el concepto de natural o seguro que los consumidores demandan.

La sociedad actual demanda productos con menos aditivos químicos ya que, algunos de éstos son sospechosos de poseer cierto grado de toxicidad. Es así, como los productores de alimentos han sido forzados a tratar de remover completamente el uso de antimicrobianos químicos o adoptar alternativas naturales para el mantenimiento o extensión de la vida útil de sus productos. (Nychas, 1995 citado por Hernández, L. 2003).

Cada día se introducen al mercado nuevos productos que responden a las necesidades de una vida útil más larga y la seguridad de que están libres de microorganismos deteriorativos o patógenos.

Muchos investigadores han llegado a la conclusión en que la evolución de aditivos para los alimentos debe basarse en un balance entre los riesgos y beneficios, (Baltasar, 2003 citado por Martínez, M. 2008), de esta manera en un futuro los aditivos benéficos serán aquellos que contengan o cumplan con varias funciones, dependiendo del alimento al cual se añadan.

Actualmente se pueden clasificar los antimicrobianos como compuestos presentes de manera natural en el producto o alimentos y los que son añadidos intencionalmente producidos de forma sintética. Entre los aditivos antimicrobianos directos aprobados para ser incorporados en los alimentos están los ácidos orgánicos y sus derivados, esterres, nitritos, nitratos entre otros. Mientras que los antimicrobianos indirectos son sustancias que se añaden con otros objetivos a los de inhibir algún microorganismo en particular, pero que por su condición química inhiben a algún microorganismo entre ellos se encuentran los fosfatos, antioxidantes fenólicos o el EDTA (Davidson y Branen, 1993 citado por Martínez, M. 2008).

El uso de sustancias químicas para combatir el florecimiento de hongos es una práctica habitual para la conservación de los productos de panadería cuando estos han de mantenerse más de 2 o 3 días. (Tabla N° 7).

**Tabla Nº 7. Conservantes Químicos en Panificación**

<b>Nº UE</b>	<b>DESCRIPCION QUIMICA DEL PRODUCTO</b>	<b>DOSIS MAXIMA DE USO</b>
E-200	Acido Sorbico	0.2 % sobre la harina Aislados o en conjunto
E-201	Sorbato Sódico	
E-202	Sorbato de Potásico	
E-203	Sorbato Cálcico	
E-262	Di acetato Sódico	0.3% sobre la harina Aislados o en conjunto
E-263	Acetato Cálcico	
E-281	Propionato Sódico	0.3% sobre la harina Aislados o en conjunto
E-282	Propionato Cálcico	

**Fuente:** Madrid, 1992

Debido a que el ácido sórbico inhibe no solo la actividad del moho sino también la de la levadura, no puede añadirse a la masa, pero puede ser rociado sobre el producto después de la cocción. Una cantidad elevada de ácido sórbico da al producto un sabor desagradable. Aunque el ácido acético y el ácido láctico son considerados sustancias antimoho, su acción se basa en crear un ambiente muy ácido que exalta la actividad de los antimohos más comunes, como el ácido sórbico y el ácido propiónico.

Según la NTP 206.004 "PAN DE MOLDE: Pan Blanco, Pan Integral y sus Productos Tostados" la cantidad máxima permitida de conservadores de Ácido Propiónico y sus sales de Ca, y Na es de 4000 mg /Kg.

### 3.2.4.1. Modo de Acción de los Antimicrobianos

La acción de los antimicrobianos sobre las células de los microorganismos en la conservación de alimentos está basada en una gran variedad de efectos individuales, dentro de las que se incluyen mecanismos físicos, fisicoquímicos y reacciones bioquímicas de la célula afectada. Algunas veces diversos factores individuales pueden producir efecto tanto acumulativo como de bloqueo. Entre dichos factores se encuentran:

1. Interferencia con la membrana celular, destruyendo su carácter semipermeable, inhibiendo así el intercambio metabólico del microorganismo con el medio.
2. Disminución de las actividades enzimáticas, al afectar la naturaleza de las proteínas o al producirse una inhibición competitiva por combinación del antimicrobiano con el grupo activo de la enzima.
3. Daño en el mecanismo genético. Donde la célula pierde su capacidad de reproducción; algunas veces causa mutaciones que interfieren en su crecimiento. (Alfaro, B. 2005 citado por Adarme, T. y Rincones, M. 2008).

Consecuentemente algunos agentes antimicrobianos pueden afectar a muchos tipos de microorganismos, mientras que otros muestran un

espectro de acción inhibitor más reducido. Del mismo modo algunos antimicrobianos pueden ser directamente microbiocidas, mientras que otros actúan como microbiostáticos (García, M. 2004).

#### **3.2.4.2. Propionato de Calcio**

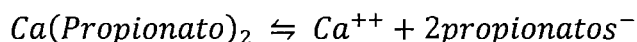
El propionato de calcio es una de las sales del ácido propiónico. Esta sal tiene menor actividad antimicrobiana que el ácido del que se deriva, sin embargo presenta la ventaja de no ser corrosiva. Además, al ser mezclada con los demás ingredientes de la masa, no altera el color, olor, sabor, volumen ni tiempo de horneado normal del pan. (Carrillo, A. 2007).

El propionato de calcio es efectivo sobre mohos, tiene baja actividad antimicrobiana en contra de las bacterias (excepto el *B. mesentericus*), y no tiene efecto sobre las levaduras, por lo cual es muy usado en la elaboración de productos que en su formulación llevan levaduras como es el caso del pan.

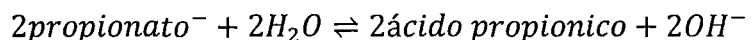
Los propionatos sódico y cálcico son muy utilizados para impedir el crecimiento de mohos y evitar la aparición de viscosidad en los productos de panadería, así como para inhibir el crecimiento de mohos en algunos quesos y en las pastas de queso fundido para extender. (Frazier y Westhoff; 1994).

La actividad de este antimicrobiano es mejor en alimentos con un pH de 4.5 a 6.0 que es en realidad donde el propionato se convierte en la forma libre del ácido. Cuenta con un  $pK_a^1$  de 4.87, por lo que en productos con pH cercano al  $pK_a$  el propionato resulta ser más efectivo. (Carrillo, A. 2007).

El propionato de calcio es producido al neutralizar el ácido propiónico con hidróxido de calcio. Cuando el propionato de calcio se disuelve en agua, este se disocia del mismo modo que otras sales químicas para formar iones de calcio e iones de propionato, como se muestra en la siguiente reacción:



Una vez que los iones de propionato están en solución, ocurre una reacción con el agua para volver a formar ácido propiónico.



Ya que esta reacción produce un ion de hidróxido, la eficacia del Propionato / Acido Propiónico depende del pH. A más bajo pH la eficacia del ácido propiónico es mayor, y a pH alto la eficacia es más baja. A un pH de 4.9 hay una cantidad igual de propionato y ácido propiónico.

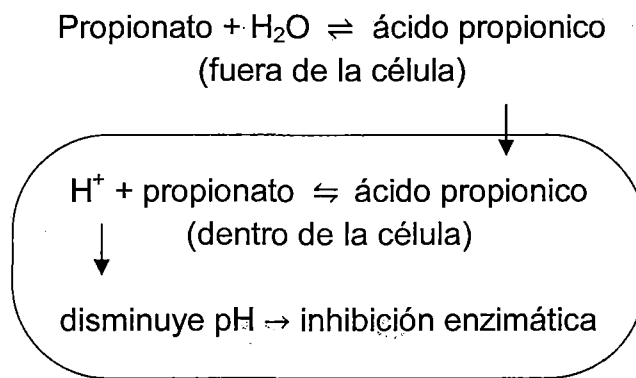
---

<sup>1</sup> El  $pK_a$  de un compuesto es la fuerza que tienen las moléculas de disociarse (es el logaritmo negativo de la constante de disociación de un ácido débil).



El propionato de calcio es un efectivo inhibidor de hongos pero también reduce la eficacia de la fermentación de la mayoría de las levaduras panaderas. El agente inhibidor es el ácido propiónico, mientras que la forma ionizada o sea el propionato no es inhibidor.

Así es como la inhibición ocurre:



De acuerdo a este modelo, la disociación del ácido propiónico dentro de la célula causa una baja en el pH, lo cual inhibe las enzimas que son menos activas a bajo pH. La forma ionizada, el propionato, es incapaz de pasar a través de la membrana celular. Sin embargo, de acuerdo a este modelo, el propionato podría no reducir el pH dentro de la célula de cualquier modo.

La cantidad de ácido propiónico inhibidor que se forma cuando el no-inhibidor ion de propionato reacciona con agua depende del pH de la masa. Por ejemplo, un cambio en el pH de 0.3 unidades nos genera un

cambio del doble de la concentración de ácido propiónico. Por eso un efectivo control de inhibición tanto de hongos como de fermentación por levadura requiere una atención especial en el control del pH de la masa.

El propionato de calcio ha sido reconocido como G.R.A.S. y no presenta limitaciones en cuanto a su uso, siempre y cuando no se excedan los niveles establecidos por las buenas prácticas de manufactura. Las concentraciones sugeridas para su uso son de 0.15% hasta 0.38%.

En la Tabla N° 8 se muestran los niveles sugeridos de propionato de calcio para productos de panificación.

**Tabla N° 8. Niveles sugeridos para el uso de Propionato de Calcio.**

<b>PRODUCTO</b>	<b>CONCENTRACION</b>
<b>Pan</b>	2 g/Kg de harina son suficientes 3 g/Kg de harina en ambientes húmedos
<b>Pasteles</b>	1 – 4 g/Kg de pasta, se adiciona con el polvo de hornear
<b>Pay</b>	1.5 – 3.0 g/Kg de masa

**Fuente:** Adaptado de Grundy, 1996 citado por Carrillo, A. 2007

### 3.2.4.3. Biocitro

Biocitro es producto del desarrollo de una Biomasa Cítrica con trazas de compuestos orgánicos con poder residual antioxidante (secuestrante de radicales libres) y antimicrobiano. Todos los componentes del Biocitro están listados como sustancias G.R.A.S. por F.D.A., por tanto no tiene riesgo alguno para la salud humana. (CHEMIE S.A; 2009).

En la Tabla N° 9 se muestran las proporciones y cada uno de los componentes del Biocitro:

**Tabla N° 9. Composición del Biocitro.**

<b>COMPONENTES</b>	
<b>Biomasa Cítrica.....</b>	<b>50 %</b>
Acido Ascórbico (Libre y ascorbatos) (vit. C).	
Bioflavonoides cítricos (vit. P) Acido Cítrico.....	4.0 a 7.2%
Pectina, azúcares, Bio-flavo proteínas.....	30.8 a 36.6%
Ácidos Grasos Cítricos.....	0.8 a 1.60%
Agua de la cristalización y constitución.....	6.0 a 11.0%
<b>Estabilizantes naturales y portadores inertes.....</b>	<b>50 %</b>
<b>TOTAL.....</b>	<b>100 %</b>

**Fuente:** CHEMIE S.A, 2009

Biocitro es una "BIOMASA" extraída de la semilla (80%) y pulpa (20%) de cítricos, combinados y formulados con glicerina USP y Sipernant (formulación en polvo), para producir compuestos biológicamente activos, conteniendo ácido ascórbico, ácido dehidroascórbico, ácido palmítico, alfa tocoferoles, ácidos grasos y aminoácidos.

El origen natural de Biocitro proviene de la obtención de la materia prima de proveedores cuidadosamente escogidos por sus cultivos ecológicos, seleccionando cuatro tipos de cítricos:

- **Pomelo** (*Citrus paradisi*)
- **Mandarina** (*Citrus reticulata blanco*)
- **Bergamota** (*Citrus aurantium L. subespecie bergamia*)
- **Naranja dulce** (*Citrus sinensis*)

Ha sido desarrollado por la empresa brasileña Química Natural Brasileira. Ltda. (QUINABRA), bajo unos estrictos controles de calidad, con la aplicación de normas GMP en todos los procesos de obtención de materias primas, fabricación y conservación de sus productos. Es un ingrediente orgánico utilizado en la industria alimentaria como una nueva alternativa que no deja residuos tóxicos, forma parte de una nueva generación de preservantes y sanitizantes al servicio del medio ambiente y el hombre.

Biocitro es un compuesto microbicida altamente efectivo contra un “amplio espectro” de bacterias y hongos patógenos, así tenemos entre otros a:

**Tabla N° 10. Espectro antimicrobiano del Biocitro.**

<b>Bacterias</b>	<b>Hongos</b>
✓ Escherichia coli	✓ Aspergillus sp.
✓ Salmonella tiphy	✓ Aspergillus niger
✓ Staphylococcus aureus	✓ Candida albicans
✓ Pseudomona aureginosa	✓ Fusarium sambucinum
✓ Streptococcus fecalis	✓ Penicillum funiculosum
✓ Listeria sp.	
✓ Proteus vulgaris	

**Fuente:** Elaboración propia

La acción microbiostática extendida del Biocitro se realiza mediante la sinergia del ácido ascórbico, bioflavonoides y otros ácidos orgánicos que contiene y que incorporado en los alimentos en bajas dosis protege las características organolépticas y de conservación, a través de una acción bacteriostática y bactericida sobre los microorganismos contaminantes. Esta acción es propia de los ácidos grasos que la componen.

La acción microbicida y antioxidante del Biocitro se inhibe notoriamente frente a substratos con procesos iniciados de oxidación o con altos recuentos microbiológicos. Por lo tanto, solo puede ser usado en productos en buen estado de conservación, con el propósito de mantener y proteger esta condición.

Entre los usos más comunes de Biocitro en la industria de alimentos tenemos, sanitización y depuración de pescados y mariscos en general, masas cárnicas, paté y embutidos. Control de hongos de superficies de quesos, así también como en harinas en general, sustitutos lácteos, mezclas de cereales, papillas, frutas y vegetales. (Tabla N° 11)

**Tabla N° 11. Niveles sugeridos para el uso de Biocitro.**

<b>PRODUCTO</b>	<b>DOSIS RECOMENDADA</b>
<b>Pescados y Mariscos</b>	300 – 600 ppm
<b>Carnes y embutidos</b>	300 – 800 ppm
<b>Productos Lácteos</b>	10 000 – 20 000 ppm
<b>Mezcla de Cereales y Harinas</b>	350 – 800 ppm
<b>Frutas y Vegetales frescos</b>	300 – 800 ppm

**Fuente:** Elaboración Propia

BioCitro se ha evaluado a través de Bioensayos de Toxicidad y Cancerigenicidad en animales y en seres humanos. Clasificándose como no tóxico, no corrosivo, no irritante primario de piel, no cancerígeno, no teratogénico y no mutagénico.

## **3.2.5 ANALISIS SENSORIAL**

### **3.2.5.1 Prueba de la escala hedónica**

La industria alimentaria siempre ha recurrido a la evaluación de las características sensoriales de sus productos como medida de control de su producción, para comprobar la homogeneidad de los lotes y verificar la ausencia de defectos para cumplir ciertos estándares de calidad. Otra aplicación es en el desarrollo de nuevos productos, para la identificación de las diferencias con los productos ya existentes. Uno de los muchos test o pruebas que se aplican actualmente son las pruebas hedónicas, en la cual se pide al consumidor que valore el grado de satisfacción general que le produce un determinado producto, utilizando para ello una escala proporcionada por el analista.

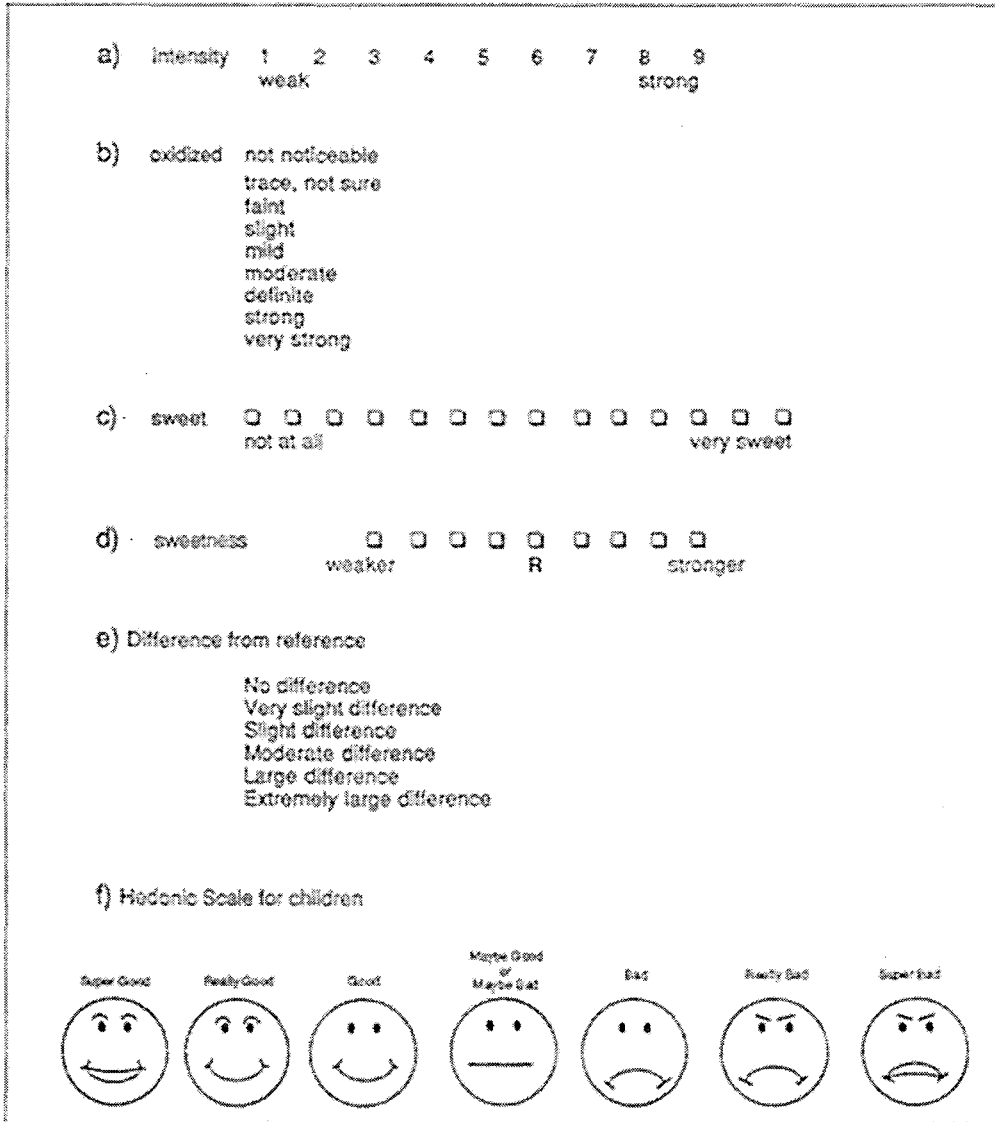
Las escalas hedónicas son instrumentos de medición que consisten en una lista ordenada de posibles respuestas correspondientes a distintos grados de satisfacción, equilibradas alrededor de un punto neutro, donde el consumidor marca la respuesta que mejor refleja su opinión sobre el producto. Estas respuestas pueden ser número enteros, etiquetas verbales o figuras, cuando el estudio se realiza con niños.

Al utilizar las escalas hedónicas, ya sea gráficas o verbales, se logra objetivizar las respuestas de los jueces acerca de las sensaciones provocadas por un producto alimenticio. Los valores numéricos obtenidos pueden ser tratados como cualquiera otra dimensión física, y por lo tanto pueden ser graficados, promediados, sometidos a análisis estadísticos tales como la prueba "T de Student", la prueba F, el análisis de varianza, análisis de regresión, etc. (Anzaldúa, 1994).

Para la medición del agrado y preferencia de un producto, la escala hedónica de nueve puntos es uno de los métodos sensoriales más usados, sin embargo se ha observado cierta tendencia de los consumidores a evitar las etiquetas de ambos extremos, creando efectos de "tendencia al centro", que reducen en la práctica la escala de 9 puntos a una de 7 o en otros casos hasta de 5 puntos. (Fig. 6).



**Fig. 6. Tipos de Escala Hedónica**



## **CAPÍTULO IV**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **4.1 LUGAR DE EJECUCIÓN**

La presente investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Centro Experimental Tecnológico de la Universidad Nacional del Callao (CET).

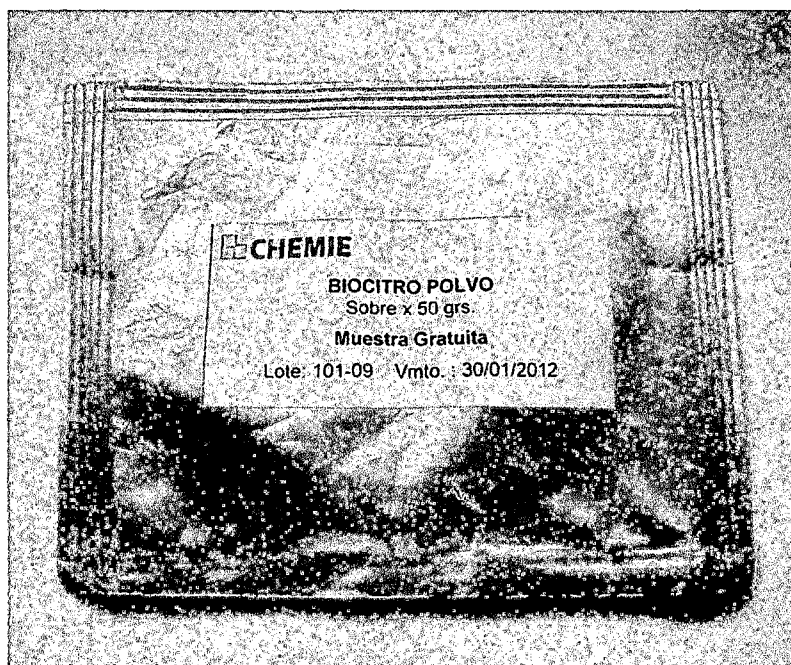
La elaboración de los panes de molde blanco se llevo a cabo en la panadería del CET. Los análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales necesarios para la realización de este trabajo, se efectuaron en los laboratorios de análisis microbiológicos y en el laboratorio de análisis químico del CET, entre los meses de julio y diciembre del 2010.

#### **4.2. MATERIA PRIMA E INSUMOS**

La harina de trigo panadera y los demás insumos necesarios para la elaboración del pan de molde blanco, con excepción del Biocitro, fueron adquiridos en un conocido supermercado mayorista ubicado en la Av. Argentina en el Callao. Dicho supermercado cuenta con los requisitos higiénicos sanitarios para la venta de productos de abarrotes en general.

El Biocitro fue suministrado por la empresa CHEMIE S.A, distribuidora del producto en Perú, ubicada en la Av. Prolongación Primavera Este 120 Oficina B-304, Chacarilla del Estante en el distrito de Surco. El Biocitro fue entregado en un sobre de aluminio plastificado en una presentación especial de 50 g, ya que era una muestra del producto. (Fig. 7)

**Fig. 7. Presentación de 50 g Biocitro**



### **4.3 MATERIALES Y EQUIPOS**

#### **4.3.1 Materiales**

- ✓ Matraces de 250 ml
- ✓ Pipetas de 1 y 10 ml.
- ✓ Probetas de 100 ml
- ✓ Placas Petri
- ✓ Bureta de 25 ml
- ✓ Vaso precipitado de 50 ml
- ✓ Tubos de ensayo de 150 mm x 20 mm
- ✓ Bolsas Estériles para Homogenizador Stomacher®

#### **4.3.2 Equipos**

- ✓ Estufa esterilizadora, marca Memmert 20 °C a 250 °C.
- ✓ Estufa incubadora, marca Memmert 20 °C a 50°C.
- ✓ Balanza analítica, marca Ohaus modelo adventurer. Max. 2100 g.
- ✓ Balanza de humedad, marca A&D, Mod.MX-50 (Japón).
- ✓ Contador mecánico de células, marca Karl Kolb.
- ✓ Refrigeradora, marca Faeda.
- ✓ Homogenizador Stomacher® Mod.400 (Alemania).
- ✓ pH-metro rango 0-14, marca VWR Scientific Mod.8025 (Alemania)

- ✓ Balanza
- ✓ Mezcladora
- ✓ Horno rotativo

#### **4.3.3 Reactivos/Medios de Cultivo**

- ✓ Agua Peptonada Tamponada, Merck
- ✓ Agar OGYE, Merck.
- ✓ Antibiótico Gentamicina 0.05 g/L
- ✓ Hidróxido de Sódio (Na OH). J.M Chemical.

#### **4.4 TIPOS DE INVESTIGACIÓN**

El tipo de investigación del presente proyecto fue de tipo experimental porque observó la influencia de las variables manipuladas. Es explicativa porque no solamente se miden las variables, sino que también se estudian las relaciones de influencia entre las variables independientes (Concentración de Propionato de Calcio y Biocitro con la Temperatura de Almacenamiento) sobre la variable dependiente (Crecimiento de mohos en pan de molde blanco). Además es aplicada porque el fin de este proyecto es resolver un problema de naturaleza práctica, aplicando los resultados.

#### 4.5 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación fue desarrollada bajo un diseño conformado por tres variables que son: concentración (ppm) de Propionato de Calcio, concentración (ppm) de Biocitro y Temperatura de Almacenamiento (°C), en las dos primeras variables tomaremos 3 concentraciones diferentes y 2 valores en el caso de la temperatura, para observar los efectos principales de cada una de las variables independientes sobre el crecimiento de mohos (ufc/g) en el pan de molde blanco.

Adicionalmente al diseño descrito se evaluó un tratamiento control, es decir, se elaboró un pan de molde blanco sin conservante alguno, este tratamiento control nos sirvió como referencia para la interpretación de los resultados, cuando comparemos los dos tratamientos (con Propionato de Calcio o Biocitro) para establecer cuál es el mejor de ambos.

Cada iteración se realizó cada 48 horas con tres repeticiones por cada tratamiento aplicado, quedando determinado el diseño de la investigación de la siguiente manera: (Fig. 8)

Fig. 8 Diseño de la Investigación

INDEPENDIENTES		FACTOR C TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO	
		C1 19 ± 3 °C	C2 35 ± 3°C
FACTOR A  CONCENTRACION DE PROPIONATO DE CALCIO	A1 1500 ppm.	A1 C1 El pan de molde blanco a una concentración de 1500 ppm y almacenado a una temperatura de 19 ± 3 °C.	Ax C2 El pan de molde blanco a una concentración de x ppm y almacenado a una temperatura de 35 ± 3°C.
	A2 2500 ppm.	A2 C1 El pan de molde blanco a una concentración de 2500 ppm y almacenado a una temperatura de 19 ± 3 °C.	
	A3 3500 ppm.	A3 C1 El pan de molde blanco una concentración de 3500 ppm y almacenado a una temperatura de 19 ± 3°C.	
<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b> <b>Crecimiento de mohos en el Pan de Molde blanco.</b>			

PROBLEMA GENERAL: FACTOR A CON FACTOR C

PROBLEMA ESPECIFICO: FACTOR (A1 C1, A1 C2, A2 C1)

Ax: MEJOR CONCENTRACIÓN DE PROPIONATO DE CALCIO

INDEPENDIENTES		FACTOR C TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO	
		C1 19 ± 3 °C	C2 35 ± 3 °C
FACTOR B  CONCENTRACION DE BIOCITRO	B1 1500 ppm.	B1 C1 El pan de molde blanco a una concentración de 1500 ppm y almacenado a una temperatura de 19 ± 3 °C.	By C2 El pan de molde blanco a una concentración de By ppm y almacenado a una temperatura de 35 ± 3 °C.
	B2 2000 ppm.	B2 C1 El pan de molde blanco a una concentración de 2000 ppm y almacenado a una temperatura de 19 ± 3 °C.	
	B3 2500 ppm.	B3 C1 El pan de molde blanco a una concentración de 2500 ppm y almacenado a una temperatura de 19 ± 3 °C.	
<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b> Crecimiento de mohos en el Pan de Molde blanco.			

PROBLEMA GENERAL: FACTOR B CON FACTOR C  
PROBLEMA ESPECIFICO: FACTOR (B1 C1, B1 C2, B2 C1)  
By: MEJOR CONCENTRACIÓN DE BIOCITRO



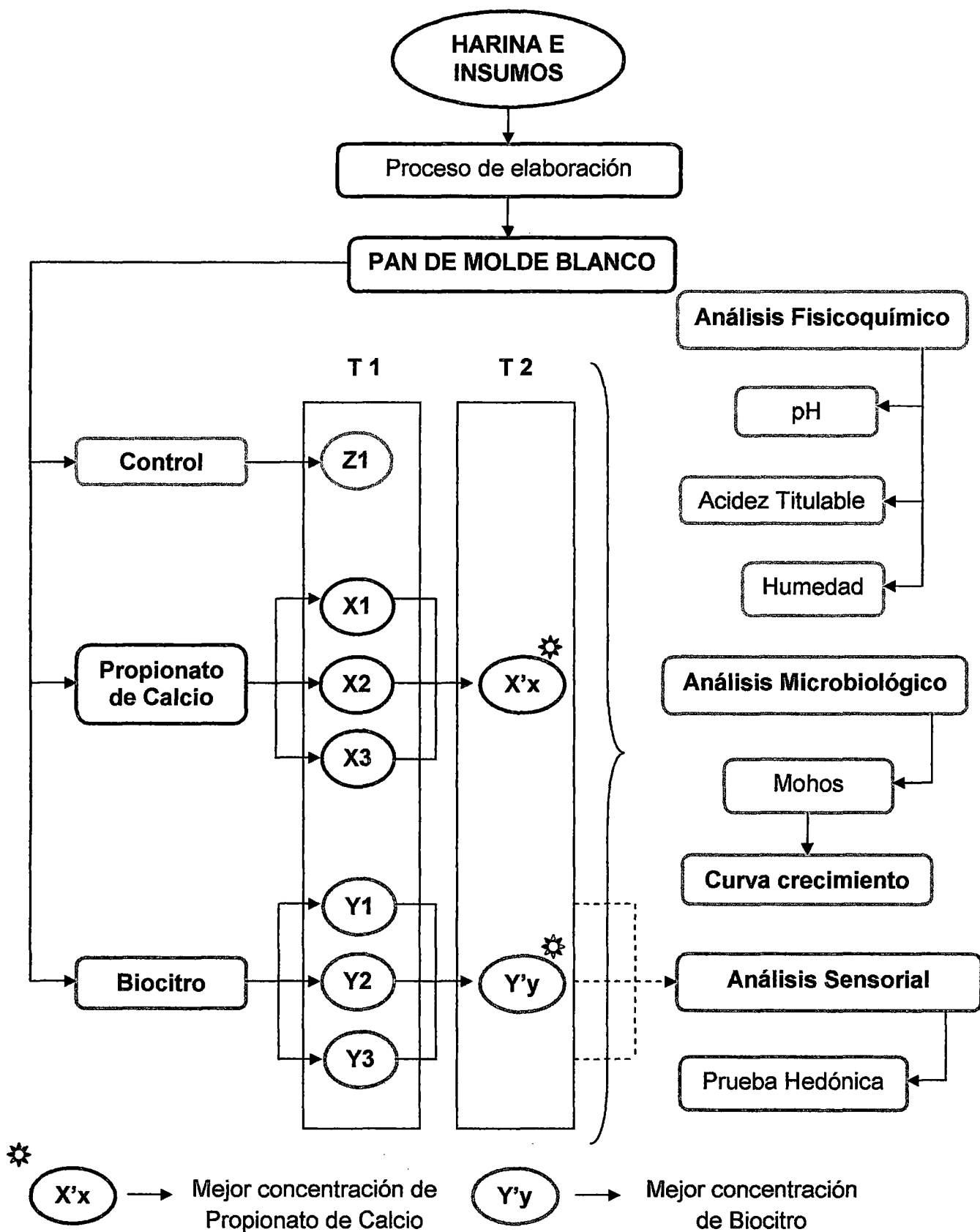
#### 4.6 DESCRIPCION DE LA EXPERIMENTACION

La producción de los panes de molde blanco, se realizó en dos lotes de producción, el primero correspondiente a la elaboración de los panes de molde blanco con el Propionato de Calcio en las concentraciones indicadas en el diseño experimental. La segunda etapa correspondió a la producción de los panes de molde blanco con Biocitro, de acuerdo con lo establecido en el diseño. Adicionalmente se consideró un tratamiento control, es decir, la elaboración de panes de molde blanco sin conservante. Se evaluarán tres repeticiones por tratamiento para un mayor grado de confiabilidad.

Luego los panes de molde blanco elaborados fueron almacenados a temperatura ambiente de  $19 \pm 3$  °C, de los cuales se tomó una muestra representativa (3 panes) cada 48 horas, lo cual permitió su análisis correspondiente. Las mejores concentraciones obtenidas con el Propionato de Calcio y el Biocitro, fueron también evaluados almacenados a temperaturas de  $35 \pm 3$  °C. El periodo de análisis de los panes de molde fue de dieciséis días, considerando como día 0 el mismo día de su elaboración.

En la Figura N° 9 se esquematiza la secuencia del trabajo experimental.

Fig. N° 9 Diseño Experimental del Estudio



#### **4.6.1 ELABORACIÓN DEL PAN DE MOLDE BLANCO**

Se elaboró 24 panes de molde blanco por cada tipo de tratamiento descrito. (1) Control, panes de molde blanco sin ningún conservante para evaluar la vida útil. (2) Propionato de Calcio, panes de molde blanco con tres concentraciones diferentes de acuerdo al diseño experimental. (3) Biocitro, panes de molde blanco con tres concentraciones diferentes de acuerdo al diseño experimental.

Las etapas de elaboración se resumen en la Figura N° 10.

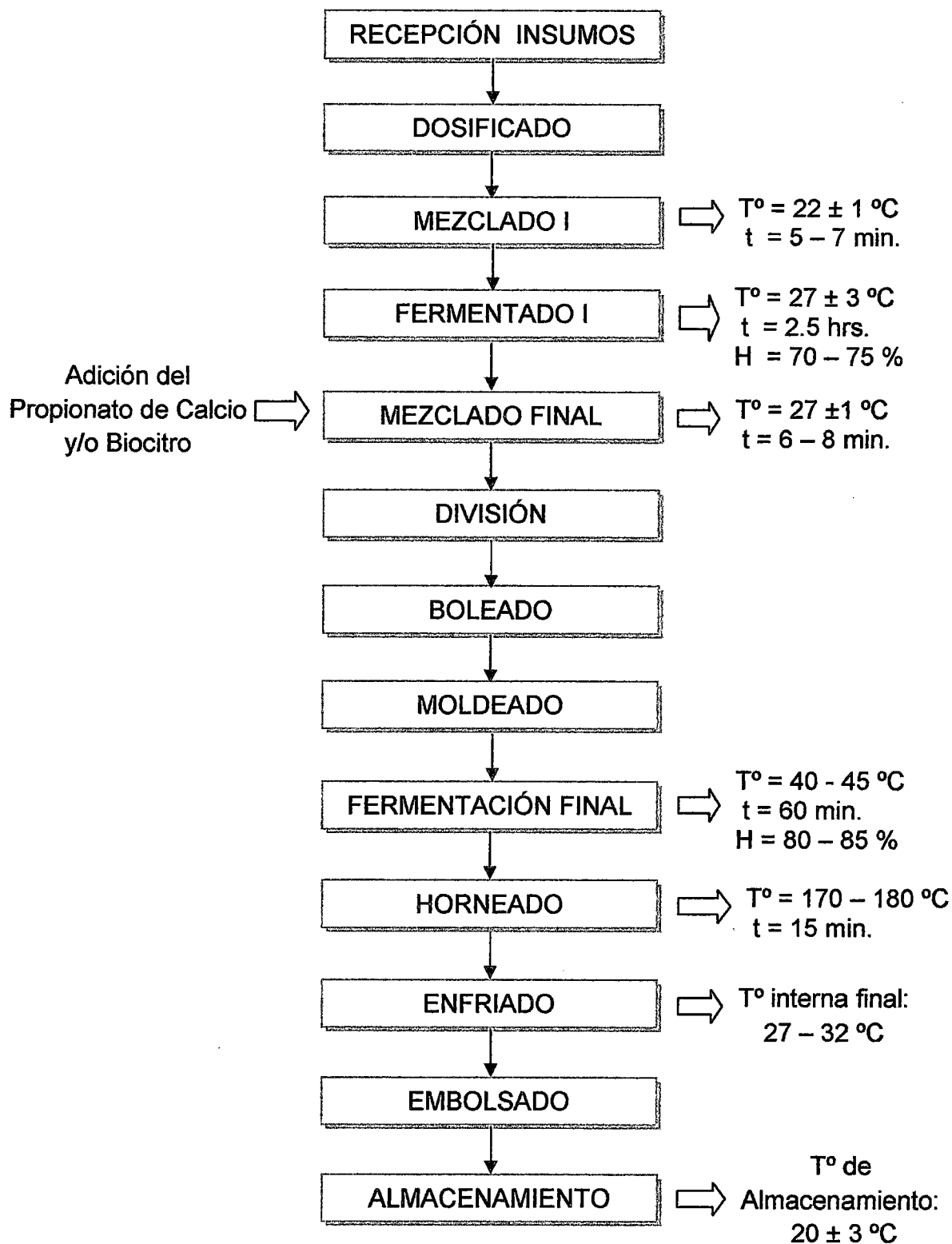
##### **4.6.1.1 Recepción de insumos**

Se recepcionó la harina de trigo y los demás insumos necesarios en bolsas de polietileno. Los insumos que requirieron almacenamiento en frío (levadura y manteca), fueron colocados en la cámara de refrigeración hasta el momento de su uso.

##### **4.6.1.2 Dosificado**

Se procedió al pesaje de los insumos necesarios para la elaboración del pan de molde, de acuerdo a la cantidad a producir y la etapa de proceso (esponja y masa), siguiendo la formulación establecida.

Fig. N° 10 Diagrama de elaboración del pan de molde blanco.



Fuente: Elaboración Propia

#### **4.6.1.3 Mezclado I (Esponja)**

Se combinó los insumos pesados para la esponja, colocando en primer lugar el agua y la levadura en la mezcladora, adicionando luego el resto de los ingredientes secos (harina y acondicionadores de masa). Los componentes de la esponja se mezclaron a velocidad 2 por un tiempo de 3 minutos hasta adquirir una masa de consistencia regularmente firme.

La esponja se colocó en una recipiente de aluminio, previamente rociado con harina, y luego se esparció harina encima de la esponja y se cubrió con una bolsa de polipropileno.

#### **4.6.1.4 Fermentado I**

La esponja se trasladó a la cámara de fermentación a 27 – 30 °C y una humedad relativa de 70 – 75 %, por un periodo de 2 horas y 30 min. Durante esta etapa la esponja aumentó su volumen y adquiere una textura ligeramente pegajosa. Al final del tiempo de fermentación se midió el pH de la esponja.

#### **4.6.1.5 Mezclado Final**

Se mezcló los insumos pesados para la masa final junto con la esponja, previamente “pinchada”. La masa final se mezcló, primero a velocidad 1, por un minuto, hasta incorporar la esponja a los demás insumos, y luego a velocidad 2 por un periodo de 3 minutos hasta obtener una masa más cohesiva y lisa, con una menor tendencia de adherirse a las paredes del tazón de la mezcladora. La materia grasa se adicionó cuando la masa adquirió consistencia, verificando así, la formación del gluten. En esta etapa es en donde se adicionó el conservante Propionato de Calcio y/o Biocitro según el grupo experimental que se elaboró.

#### **4.6.1.6 División**

La división la efectuamos de manera manual, cortando trozos de masa que luego pesamos, manteniendo un peso constante de aproximadamente 200 g de masa por cada pieza de pan.

#### **4.6.1.7 Boleado**

El boleado fue de manera manual, con suaves movimientos rotatorios, con la finalidad de formar una pieza de superficie tersa y relativamente seca.

#### **4.6.1.8 Moldeado**

El moldeado se realizó a mano, se unto un poco de aceite en la mesa de trabajo, para evitar que la masa se adhiriera a la mesa de trabajo. La pieza de pan se colocó al centro y con un rodillo de plástico se estiró la masa con movimientos verticales y horizontales. Luego se enrolló la pieza de pan desde arriba hacia abajo y se colocaron en moldes, previamente untados con margarina.

#### **4.6.1.9 Fermentación Final**

Los moldes fueron colocados en bandejas y trasladados a la cámara de fermentación a una temperatura de 40 – 45 °C y una humedad relativa del 80 – 85% por un espacio de 60 minutos, hasta observar que la masa subiera hasta las  $\frac{3}{4}$  partes del molde blanco.

#### **4.6.1.10 Horneado**

Las bandejas fueron colocadas en el horno a una temperatura de 180°C por 15 minutos, el tiempo de horneado depende del tamaño del producto a hornear.

#### **4.6.1.11      Enfriado**

Al término del tiempo de horneado, las bandejas son colocadas en coches para el proceso de enfriado. El proceso de enfriado fue por 60 minutos aproximadamente, hasta que los panes de molde blanco tuvieran una temperatura entre 27 – 32°C.

#### **4.6.1.12      Embolsado**

Una vez frías, las piezas de pan de molde blanco fueron embolsadas, manteniendo las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), con bolsas de polipropileno de medidas 7x14 y amarradas con rafia color blanco.

#### **4.6.1.13      Almacenamiento**

Los panes de molde blanco fueron colocados en un estante ubicado en la panadería del CET, separado en tres grupos correspondientes cada uno a una repetición, hasta su posterior evaluación. La temperatura óptima fue entre 16 y 22 ° C y humedad relativa a 75%. Se apiló como máximo 2 unidades, para evitar el daño por deformación y desmoronamiento.



## **4.6.2 EVALUACION DEL PAN DE MOLDE BLANCO**

Se utilizaron 24 panes de molde blanco de 180 g de peso aproximadamente para cada tratamiento aplicado, a los cuales se les practicó los análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales de acuerdo al tratamiento en estudio.

### **4.6.2.1 Muestreo**

La toma de muestra de los panes de molde blanco fue de forma aleatoria de cada lote producido y se realizó cada 48 horas por un periodo de dieciséis días.

Para el muestreo se usó un cuchillo estéril que permitió el corte del pan de molde blanco, el corte fue de forma rectangular de medidas 4.5 x 5.0 cm aproximadamente, manteniendo en todo momento las condiciones de asepsia. El pesado de la muestra se realizó en una luna de reloj estéril, muestreándose 10 g de pan de molde blanco para el análisis microbiológico y 20 g de pan de molde blanco para las pruebas fisicoquímicas.

#### **4.6.2.2 Análisis Microbiológicos**

Luego de obtenida la muestra de 10 g destinada al análisis microbiológico, se procedió a cuantificar los mohos presentes en el pan de molde blanco. El recuento de mohos se realizó por el método de siembra en profundidad con Agar OGYE. (Apartado 4.7.2).

#### **4.6.2.3 Análisis Fisicoquímicos**

La muestra de 20 g de pan de molde blanco fue separada en dos muestras de 10 g cada una. Los primeros 10 g de muestra fue triturada y homogenizada con un Stomacher® 400, procediéndose luego a la determinación del pH y posteriormente, con la misma muestra, la determinación de la acidez titulable. Los otros 10 g son utilizados para la determinación de humedad. (Apartado 4.7.1).

#### **4.6.2.4 Análisis Sensoriales**

Para el análisis sensorial se tomaron dos muestras de panes de molde blanco con Biocitro que fueron rebanadas, obteniéndose así, 20 tajadas de 10 g cada una. (Apartado 4.7.3).

## **4.7 MÉTODOS DE ANÁLISIS**

### **4.7.1 ANÁLISIS FISCOQUÍMICO**

#### **4.7.1.1 Determinación de pH (AOAC N°943.02 –potenciométrico)**

La determinación de pH se realizó mediante el pH-metro VWR Scientific. Se calibró el pH-metro a dos puntos con soluciones buffer de pH 7.01 y 4.01 a temperatura ambiente. Para la medición, se colocó 10g de muestra triturada en una bolsa de Stomacher® adicionándole 100 ml de agua destilada a 25°C, luego se homogenizó con la ayuda de un Homogenizador Stomacher® 400, por un tiempo de trabajo de 3-5 min, hasta que las partículas estuvieran suspendidas uniformemente y la mezcla sin grumos. Seguidamente se procedió a decantar el sobrenadante en un vaso precipitado de 100 ml. Inmediatamente se colocó el electrodo del pH-metro, previamente calibrado, por varios segundos, hasta que se estabilizó la lectura de pH en la pantalla de forma inmediata.

Este método se basó en la determinación de la concentración de hidrogeniones presentes en la solución acuosa.

#### **4.7.1.2 Determinación de Acidez Titulable (NTP 206.013:1981)**

A 10g de la muestra preparada se agregó 100 cm<sup>3</sup> de agua destilada recientemente hervida y fría. Se mezcló bien con la ayuda del Homogenizador Stomacher® 400, por un tiempo de trabajo de 3-5 min. Se filtra a través del papel filtro sobre un matraz aforado de 200 cm<sup>3</sup>. Se completa a volumen con agua destilada. Se toma una alícuota de 20 cm<sup>3</sup> del filtrado y se lleva a un Erlenmeyer. Se agrega 5 gotas de fenolftaleína y se titula con solución de hidróxido de sodio 0.1 N hasta color rosado suave que perdure por 30 segundos. Se anota el gasto.

Se reporto la acidez expresada en % de acido sulfúrico (1 mL NaOH 0.1N = 0.04904 g de acido sulfúrico).

#### **4.7.1.3 Determinación de Humedad (Balanza de Humedad)**

Para la determinación del contenido de humedad en el pan de molde, se utilizó la balanza de humedad marca A&D, Mod.MX-50 (Japón). Para el uso de la balanza se siguió el siguiente procedimiento:

- Se encendió la balanza y se esperó su estabilización.
- Con el botón "PROGRAM", se selecciono el programa previamente grabado en la balanza (115°C por 10 min.) y se presiono "ENTER".

- Se destapó la balanza y se colocó el plato de la muestra, si no está establecida presiona la tecla "RESET" y se verifico el cero. Se colocó 1g de muestra en el plato, finamente pedazeada, se baja la tapa y se presiona la tecla "STAR", empezando el secado.
- La lectura del resultado es de forma directa (% de Humedad).

Este método se basa en calentar la muestra, dispuesta en la balanza digital, bajo condiciones controladas de calefacción intensa, y el instrumento mide automáticamente la pérdida de peso, para calcular el % de humedad o de sólidos totales.

**Fig. 11 Balanza de Humedad**



## **4.7.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

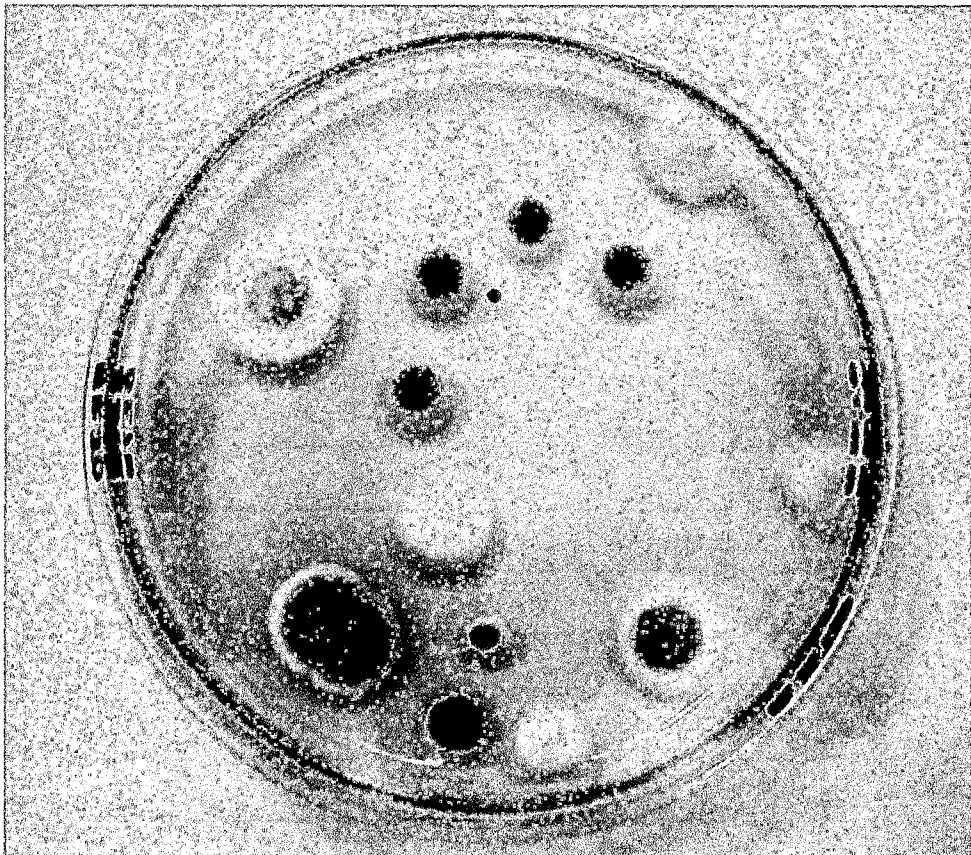
### **4.7.2.1 Recuento de Mohos (Norma ISO 7954:1987)**

Para el recuento de mohos presentes en la muestra aplicamos la técnica de recuento en placa por siembra en profundidad en Agar OGYE (Merck). Se pesó 10 g de muestra en una bolsa de Stomacher® estéril con 90 ml de agua peptonada, luego se homogenizó durante 1 minuto en el Stomacher® 400 a una velocidad normal, obteniendo así, la dilución primaria. La suspensión anterior se vertió a un matraz de 250 ml de la cual se tomó 1 ml y se transfirió a un tubo de ensayo que contenga 9.0 ml de agua peptonada, se agitó y repitió esta operación tantas veces como diluciones sean necesarias.

Para la siembra se tomó 1 ml de cada dilución utilizando una pipeta estéril y se inoculó en una placa Petri estéril, incorporándose luego de 12-15 mL de Agar OGYE, previamente fundido y temperado a 40 °C, se homogenizó cuidadosamente el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, seis en el sentido de las manecillas del reloj, seis en sentido contrario y seis de atrás hacia adelante, sobre una superficie lisa, teniendo cuidado de no humedecer con el medio la tapa de la placa de Petri. Se dejó reposar sobre una superficie horizontal fría hasta que solidifique.

Luego se invirtieron las placas y colocaron en la incubadora a  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Concluido el periodo de incubación se realizó la lectura con un contador de colonias tipo "Quebec". Se contaron las colonias de cada placa después de 3, 4 y 5 días de incubación. Si alguna de las placas Petri muestra crecimiento extendido de mohos o si es difícil contar colonias bien aisladas, considerar la cuantificación de 4 días de incubación o incluso las de 3 días. Los resultados fueron expresados en ufc/g.

**Fig. 12 Colonias de mohos en Agar OGYE**



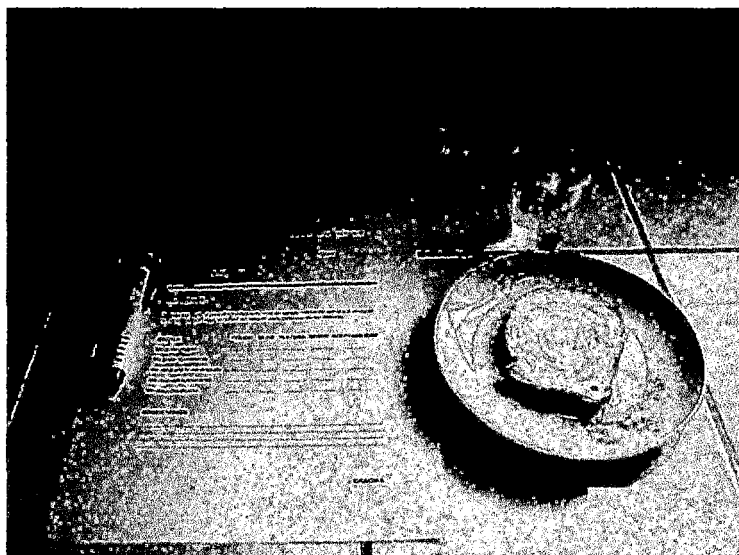
### 4.7.3 ANÁLISIS SENSORIAL

#### 4.7.3.1 Prueba de la escala hedónica

Esta prueba se llevó a cabo para determinar sensorialmente el nivel óptimo de Biocitro en el pan de molde blanco, aplicando la escala hedónica solicitando al consumidor que valore el grado de satisfacción general que le producía el pan de molde blanco con Biocitro, utilizando para ello una escala hedónica de 5 puntos (Ver Apéndice N° 1).

Para la realización de la prueba se utilizaron 20 panelistas semientrenados de ambos sexos, a los cuales se les proporcionó una hoja con el formato de la escala hedónica, un lapicero, una tajada de pan de molde blanco y un vaso con agua. Los atributos evaluados fueron color, olor, textura, sabor y aceptabilidad. (Fig. 13).

**Fig. 13 Análisis Sensorial del Pan de Molde Blanco**





#### 4.7.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de la evaluación microbiológica de los tratamientos con Propionato de Calcio y Biocitro (ppm) sobre el crecimiento de mohos (UFC/g) para cada concentración experimental se midió a través de sus parámetros cinéticos de crecimiento (Velocidad de crecimiento ( $\mu_{\max}$ ) y Tiempo de latencia ( $\lambda$ )), así como el tiempo de vida útil del pan de molde blanco, que se obtuvo de cada tratamiento durante los 16 días de estudio.

El procesamiento de los datos se realizó con el programa DMFit<sup>2</sup>, que permitió ajustar los parámetros cinéticos de crecimiento de los mohos de acuerdo al modelo de crecimiento poblacional propuesto por Baranyi y Roberts (1994).

La semejanza o diferencia de cada curva de crecimiento se estableció mediante el análisis de varianza ANVA, con un nivel de significancia  $p=0.05$ , utilizando las iteraciones realizadas. La estimación del mejor efecto significativo de inhibición del crecimiento de mohos en el pan de molde se obtuvo por comparaciones múltiples aplicando el diseño de Tuckey. El procesamiento de los datos se realizó con el programa estadístico XLSTAT 2010, complemento para Microsoft Office Excel 2007.

---

<sup>2</sup> DMFit, Herramienta predictiva online, 2010 (ComBase-USDA)

## CAPÍTULO V

### RESULTADOS

Al comparar el efecto de las diferentes concentraciones de Propionato de Calcio y Biocitro, sobre el crecimiento de mohos que se desarrollaron en el pan de molde blanco almacenado a las temperaturas de  $19 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $35 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ , se obtuvo los siguientes resultados:

5.1 En la determinación del efecto inhibitorio dado por la mejor concentración de Propionato de Calcio sobre el crecimiento de mohos en el pan de molde blanco, consideramos los parámetros cinéticos de crecimiento desarrollados por los mohos y el tiempo de vida útil del pan de molde, para ello se experimentó con tres concentraciones diferentes de Propionato de Calcio (1500, 2500 y 3500 ppm). El pan de molde blanco se mantuvo a una temperatura de  $19 \pm 3^\circ\text{C}$ .

La estimación de la vida útil del pan de molde se realizó en función de la máxima población permitida por la norma sanitaria vigente (NTS N° 071 DIGESA/MINSA), cuya máximo recuento permitido de mohos es  $10^3 \text{ ufc/g}$  ( $3.0 \log \text{ ufc.g}^{-1}/\text{hora}$ ).

Con los parámetros cinéticos de crecimiento de mohos y el tiempo de vida útil del pan de molde, obtenidos de los tres tratamientos, se procedió a determinar el mejor tratamiento o concentración de Propionato de Calcio para lograr la inhibición de la población de mohos presentes en el pan de molde blanco. (Cuadro N° 1)

**Cuadro N° 1. Parámetros cinéticos de crecimiento de mohos y tiempo de vida útil del pan de molde blanco en los tres tratamientos con Propionato de Calcio.**

[ ] ppm	$\lambda$ horas	$\mu_{Max}$ log Ufc.g <sup>-1</sup> /h	V.U horas
<b>1500</b>	43.36 <sup>a</sup> ± 25.20	0.017 <sup>a</sup> ± 0.002	161.33 <sup>a</sup> ± 11.56
<b>2500</b>	108.59 <sup>a-b</sup> ± 14.82	0.017 <sup>a</sup> ± 0.001	235.34 <sup>b</sup> ± 03.12
<b>3500</b>	172.78 <sup>b</sup> ± 50.25	0.015 <sup>a</sup> ± 0.004	339.96 <sup>c</sup> ± 20.16

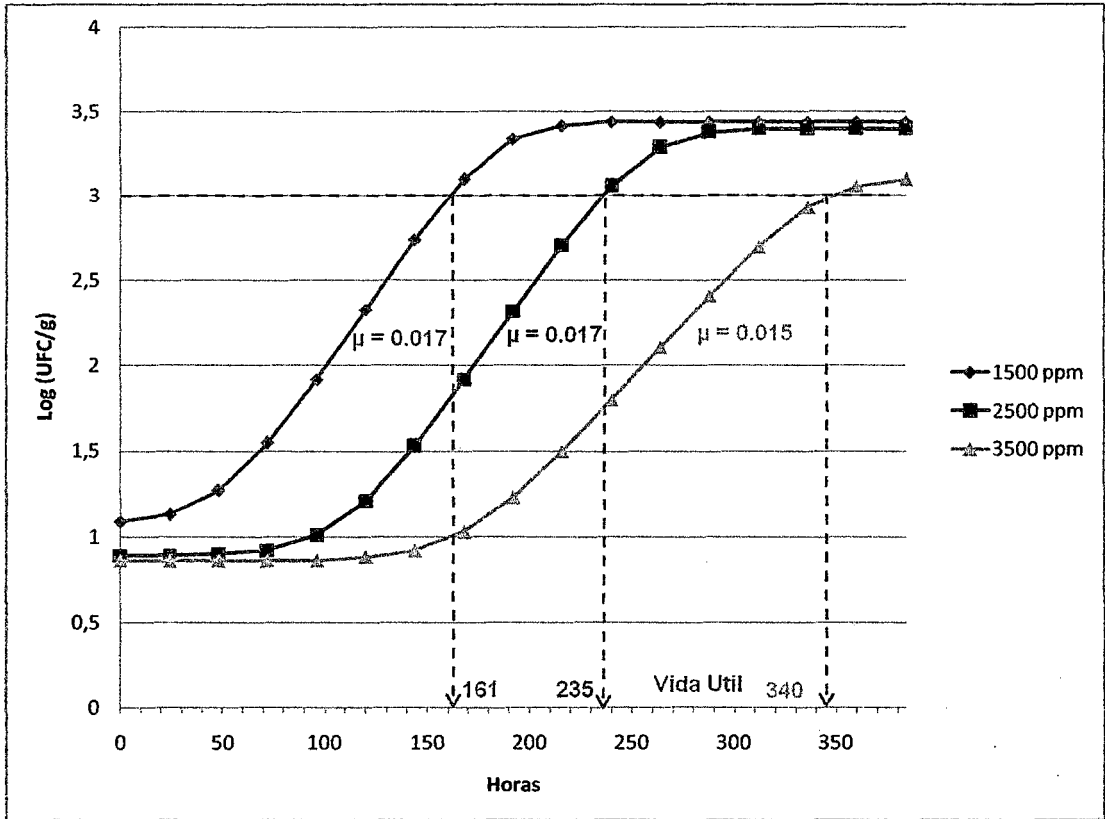
Superíndices diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (P<0.05).

**Fuente:** Elaboración Propia

Los parámetros cinéticos de crecimiento para los tres tratamientos presentados en el Cuadro N° 1, evidenciaron que no existe diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ), para la velocidad máxima de crecimiento ( $\mu_{Max}$ ) entre los tres tratamientos, es decir, que una vez superado el tiempo de latencia ( $\lambda$ ) los mohos tienen una velocidad de crecimiento ( $\mu_{Max}$ ) estadísticamente igual. (Gráfica N° 1).

Gráfica N° 1.

Curvas de crecimiento promedio de mohos de los tres tratamientos con Propionato de Calcio (1500, 2500 y 3000 ppm)



Fuente: Elaboración Propia

Entonces, la comparación del efecto inhibitorio de los tratamientos experimentales se midió a través del tiempo de latencia ( $\lambda$ ) y el tiempo de vida útil (V.U), mostrando que existe diferencia significativa entre las medias de los tratamientos de 3500, 2500 y 1500 (Cuadro N° 2). Como se observa en el cuadro, la diferencia es significativa para el tiempo de latencia ( $\lambda$ ) y tiempo de vida útil (V.U) cuando comparamos los tratamientos de 3500 y 1500, siendo el de 3500 el mejor tratamiento.

Comparando los tratamientos de 3500 y 2500, se observa diferencia no significativa en el tiempo de latencia ( $\lambda$ ), sin embargo, si nos otorga una diferencia significativa en el tiempo de vida útil (V.U), por lo tanto, el tratamiento de 3500 fue considerado como la mejor concentración de Propionato de Calcio para la inhibición de mohos en el pan de molde.

**Cuadro N° 2. Prueba de Tukey (HSD) entre los tratamientos con Propionato de Calcio ( $\alpha = 0.05$ )**

Contraste	Diferencia	
	$\lambda$ (horas)	V.U (horas)
3500 vs 1500	129.424 <sup>a</sup>	178.627 <sup>a</sup>
3500 vs 2500	64.183 <sup>b</sup>	104.623 <sup>a</sup>
2500 vs 1500	65.241 <sup>b</sup>	74.004 <sup>a</sup>

(<sup>a</sup>) Diferencia significativa. (<sup>b</sup>) Diferencia no significativa.

**Fuente:** Elaboración Propia

5.2 En la determinación del efecto inhibitorio dado por la mejor concentración de Biocitro sobre el crecimiento de mohos en el pan de molde blanco, consideramos los parámetros cinéticos de crecimiento desarrollados por los mohos y el tiempo de vida útil del pan de molde, para ello se experimentó con tres concentraciones diferentes de Biocitro (1500, 2000 y 2500 ppm). El pan de molde blanco se mantuvo a una temperatura  $19 \pm 3^\circ\text{C}$ .

La estimación de la vida útil del pan de molde se realizó en función de la máxima población permitida por la norma sanitaria vigente (NTS N° 071 DIGESA/MINSA), cuya máximo recuento permitido de mohos es  $10^3$  ufc/g ( $3.0 \log \text{ ufc.g}^{-1}/\text{hora}$ ).

Con los parámetros cinéticos de crecimiento de mohos y el tiempo de vida útil del pan de molde, obtenidos de los tres tratamientos, se procedió a determinar el mejor tratamiento o concentración de Biocitro para lograr la inhibición de la población de mohos presentes en el pan de molde blanco. (Cuadro N° 3).

**Cuadro N° 3. Parámetros cinéticos de crecimiento de mohos y tiempo de vida útil del pan de molde blanco en los tres tratamientos con Biocitro.**

[ ] ppm	$\lambda$ horas	$\mu_{\text{Max}}$ $\log \text{ Ufc.g}^{-1}/\text{h}$	V.U horas
<b>1500</b>	154.75 <sup>a</sup> ± 19.91	0.035 <sup>a</sup> ± 0.014	220.56 <sup>a</sup> ± 19.06
<b>2000</b>	172.01 <sup>a</sup> ± 04.97	0.018 <sup>a</sup> ± 0.004	299.74 <sup>b</sup> ± 33.02
<b>2500</b>	187.84 <sup>a</sup> ± 16.62	0.019 <sup>a</sup> ± 0.002	299.55 <sup>b</sup> ± 13.91

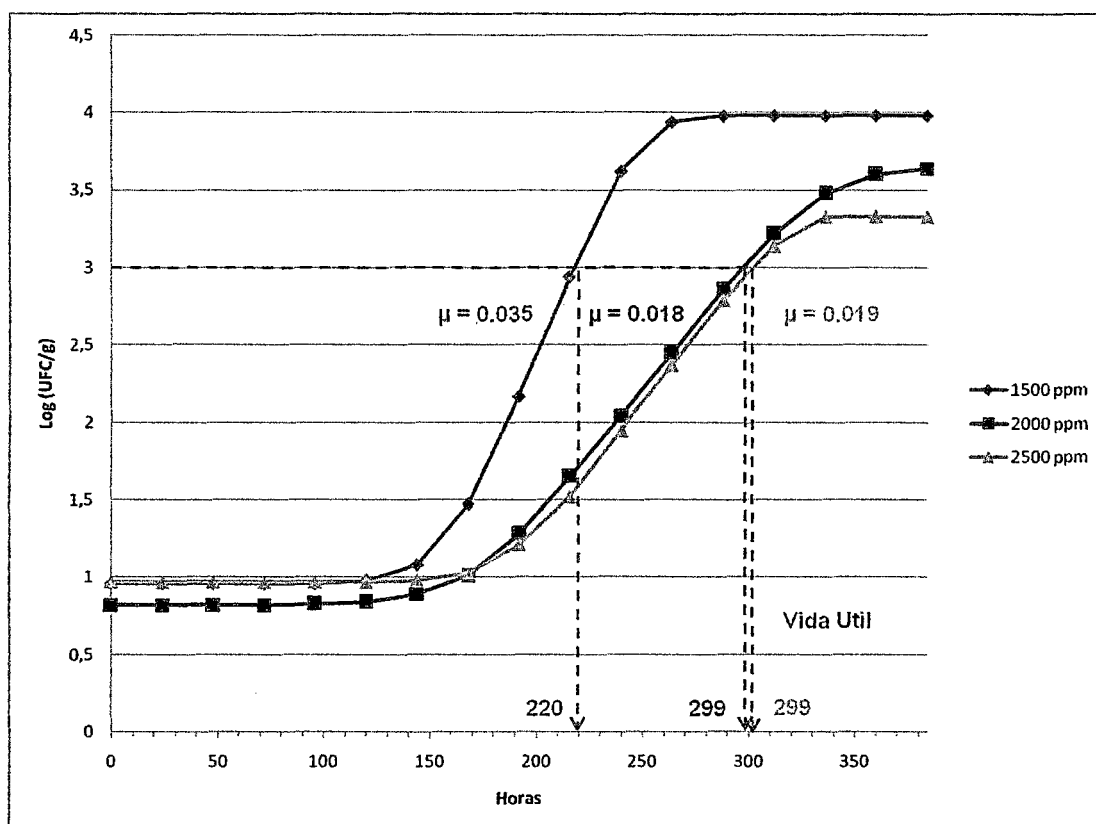
Superíndices diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

**Fuente:** Elaboración Propia

Los parámetros cinéticos de crecimiento y el tiempo de vida útil del pan de molde para los tres tratamientos presentados en el Cuadro N° 3, evidenciaron que no existe diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ), para la velocidad máxima de crecimiento ( $\mu_{Max}$ ) y para el tiempo de latencia ( $\lambda$ ) entre los tres tratamientos, lo que significa que son estadísticamente iguales para los tres tratamientos. (Gráfica N° 2).

**Gráfica N° 2.**

**Curva de crecimiento promedio de mohos de los tres tratamientos con Biocitro (1500, 2000 y 2500 ppm)**



**Fuente: Elaboración Propia**

Entonces, la comparación del efecto inhibitorio de los tratamientos experimentales se midió a través del tiempo de vida útil (V.U), mostrando que existe diferencia significativa entre las medias de los tratamientos de 2500, 2000 y 1500 (Cuadro N° 4). Como se observa en el cuadro, la diferencia es significativa para el tiempo de vida útil (V.U) cuando comparamos los tratamientos de 2500 y 2000 frente a 1500, siendo los dos primeros mejores que 1500.

Comparando los tratamientos de 2500 y 2000, se observa diferencia no significativa en el tiempo de vida útil (V.U), es decir, que elaborar un pan de molde con los tratamiento de 2500 y 2000 proporciona un tiempo de vida útil estadísticamente igual para ambos tratamientos, por lo tanto, consideraremos el tratamiento de 2000 como la mejor concentración de Biocitro para la inhibición de mohos en el pan de molde, ya que obtenemos el mismo resultado con una menor concentración.

**Cuadro N° 4. Prueba de Tukey (HSD) entre los tratamientos con Biocitro ( $\alpha = 0.05$ )**

Contraste	Diferencia
	Vida Útil (horas)
2500 vs 1500	78.984 <sup>a</sup>
2500 vs 2000	0.019 <sup>b</sup>
2000 vs 1500	79.174 <sup>a</sup>

(<sup>a</sup>) Diferencia significativa. (<sup>b</sup>) Diferencia no significativa.

Fuente: Elaboración Propia



5.3 Paralelamente se evaluó los parámetros fisicoquímicos de pH, acidez y humedad de los panes de molde de todos los tratamientos experimentales. En el Cuadro N° 5, se presenta los valores de humedad inicial, final y la pérdida de humedad que presentaron los panes de molde durante los 16 días de evaluación fisicoquímica.

**Cuadro N° 5. Valores de humedad de los panes de molde blanco elaborados con Propionato de Calcio y Biocitro**

<b>Conservante</b>	<b>[ppm]</b>	<b>%H<sub>0</sub> (Inicial)</b>	<b>%H<sub>f</sub> (Final)</b>	<b>Perdida %H</b>
<b>Propionato de Calcio</b>	<b>1500</b>	39.23 ± 0.30	32.14 ± 1.08	7.09 ± 0.84
	<b>2500</b>	40.04 ± 0.23	34.30 ± 0.59	5.74 ± 0.71
	<b>3500</b>	40.03 ± 0.31	33.40 ± 0.42	6.63 ± 0.58
<b>Biocitro</b>	<b>1500</b>	38.64 ± 1.19	34.27 ± 0.44	4.36 ± 1.30
	<b>2000</b>	39.87 ± 0.44	33.60 ± 0.18	6.27 ± 0.56
	<b>2500</b>	40.24 ± 0.54	33.76 ± 0.63	6.48 ± 1.15

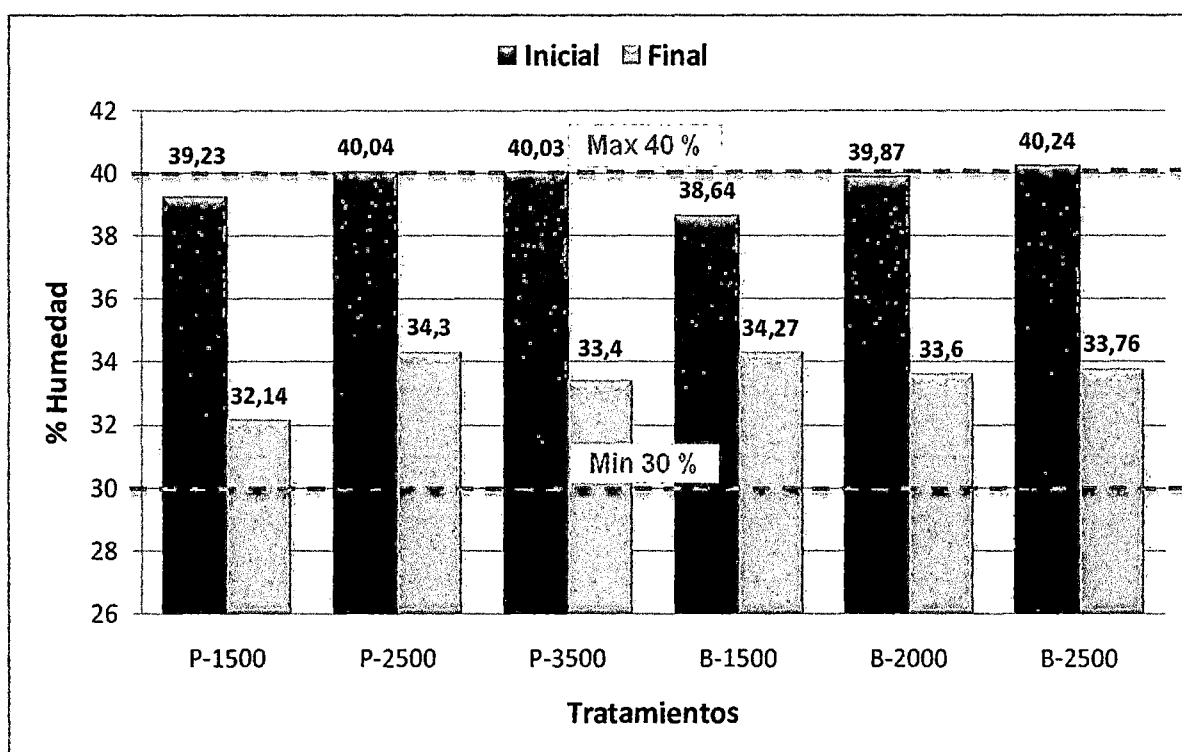
**Fuente:** Elaboración Propia

Los % de humedad inicial y final de los panes de molde elaborados con Propionato de Calcio y Biocitro que fueron analizados, presentaron valores promedio que se encuentran entre 33.4% y 40.04% de humedad, y se encuentran en el rango de humedad exigido por la NTP 206.004, la cual indica una humedad máxima de 40 %, así como también, la NMX-F-159-S-1983, que refiere que el pan de molde debe tener un mínimo de 30% de humedad. (Gráfica N° 3).

La pérdida de humedad promedio del pan de molde en los tratamientos fue del 6%, al final de los 16 días de evaluación fisicoquímica, para ambos conservantes.

**Gráfica N° 3.**

**Evaluación de la humedad en los panes de molde blanco elaborados con Propionato de Calcio y Biocitro**



**Fuente:** Elaboración Propia

También se realizó la evaluación del potencial de hidrogeniones (pH), a través del método potenciométrico. Los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro N° 6, donde se puede apreciar el pH inicial y final obtenido de los panes de molde elaborados con Propionato de Calcio y Biocitro, al cabo de los 16 días de evaluación fisicoquímica.

**Cuadro N° 6. Valores de pH de los panes de molde blanco elaborados con Propionato de Calcio y Biocitro.**

<b>Conservante</b>	<b>[ppm]</b>	<b>pH Inicial</b>	<b>pH Final</b>
<b>Propionato de Calcio</b>	<b>1500</b>	5.70 ± 0.03	5.46 ± 0.03
	<b>2500</b>	5.59 ± 0.03	5.52 ± 0.02
	<b>3500</b>	5.64 ± 0.04	5.48 ± 0.02
<b>Biocitro</b>	<b>1500</b>	5.41 ± 0.02	5.32 ± 0.02
	<b>2000</b>	5.32 ± 0.02	5.24 ± 0.01
	<b>2500</b>	5.37 ± 0.02	5.27 ± 0.05

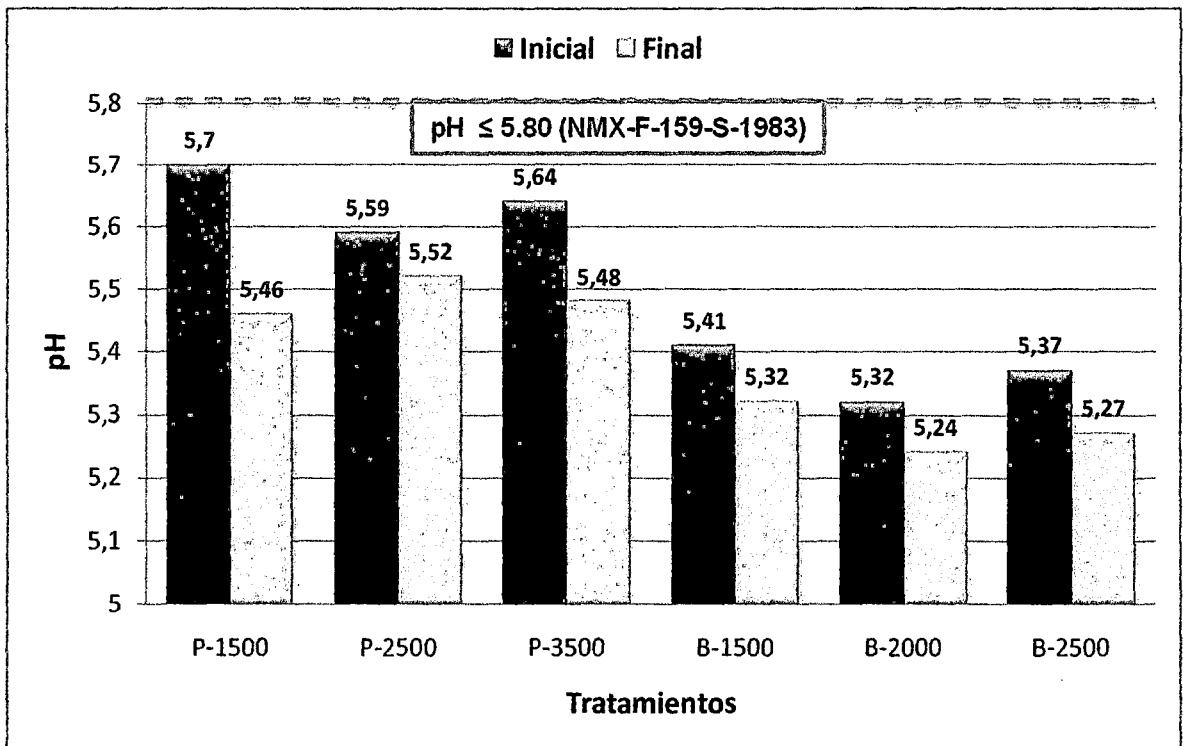
**Fuente:** Elaboración Propia

Como se observa en el Cuadro N° 6, los valores de pH iniciales de los panes elaborados con Biocitro son menores que los elaborados con Propionato de Calcio, es decir tienen una tendencia a ser mas ácidos, lo que mejora y alarga la vida útil del pan de molde. Esta tendencia es reflejada debido a que el conservante natural Biocitro es un extracto de frutas cítricas lo que modifica el pH del pan de molde.

En la Gráfica N° 4 se aprecia con mejor detenimiento la tendencia acida de los panes elaborados con Biocitro, con valores de pH promedio de 5.37, en comparación con los panes elaborados con Propionato de Calcio en los que tenemos valores promedio de pH de 5.64. Ambos tratamientos no superan lo establecido por la NMX-F-159-S-1983, que refiere que el pan de molde debe tener un máximo de 5.80 de pH.

Gráfica N° 4.

Evaluación de pH en los panes de molde blanco elaborados con Propionato de Calcio y Biocitro



Fuente: Elaboración Propia

Así mismo, se realizó la evaluación de la determinación de acidez titulable. Los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro N° 7, donde se puede apreciar el % de acidez inicial y final obtenida en todos panes de molde analizados, así como el porcentaje de ácido sulfúrico producido al cabo de los 16 días de evaluación fisicoquímica.

**Cuadro N° 7. Valores de acidez titulable de los panes de molde blanco elaborados con Propionato de Calcio y Biocitro.**

<b>Conservante</b>	<b>[ppm]</b>	<b>%Acidez Inicial</b>	<b>%Acidez Final</b>	<b>Aumento</b>
<b>Propionato de Calcio</b>	<b>1500</b>	0.058 ± 0.00	0.071 ± 0.006	0.013 ± 0.006
	<b>2500</b>	0.058 ± 0.00	0.071 ± 0.003	0.013 ± 0.003
	<b>3500</b>	0.060 ± 0.003	0.075 ± 0.002	0.015 ± 0.005
<b>Biocitro</b>	<b>1500</b>	0.080 ± 0.003	0.098 ± 0.000	0.018 ± 0.003
	<b>2000</b>	0.088 ± 0.009	0.105 ± 0.006	0.017 ± 0.008
	<b>2500</b>	0.083 ± 0.000	0.103 ± 0.009	0.020 ± 0.009

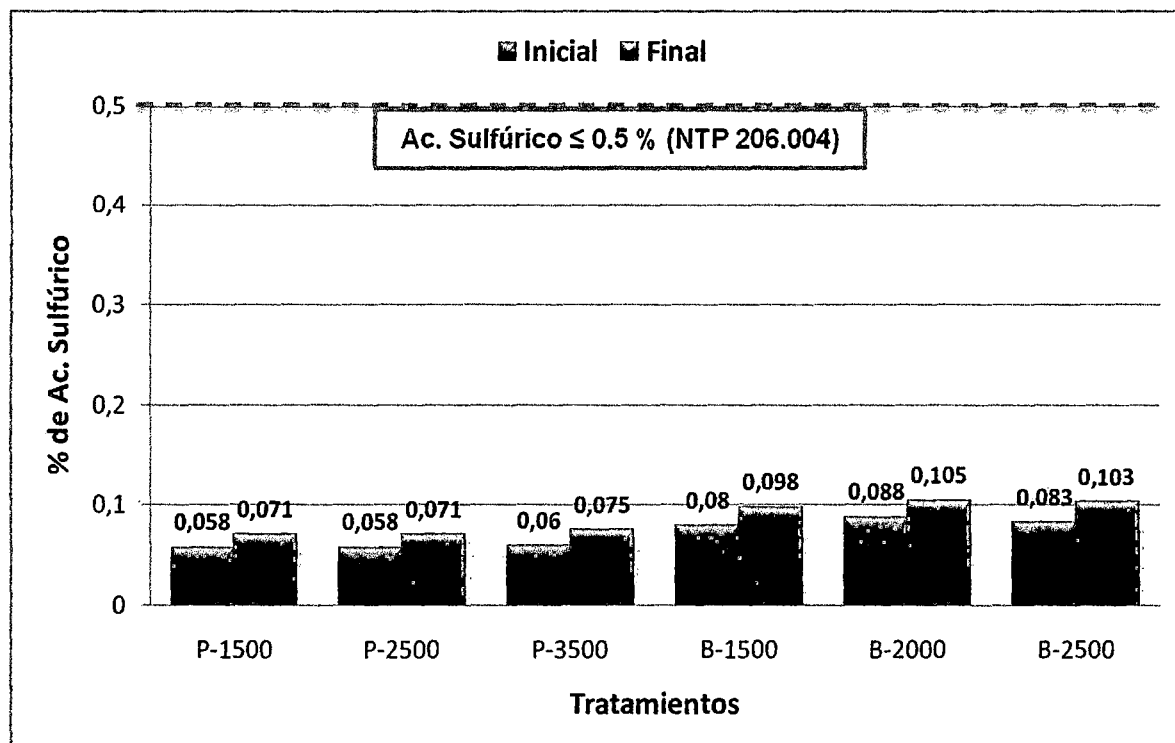
**Fuente:** Elaboración Propia

Como se observa en el Cuadro N° 7, los valores de acidez inicial y final de los panes elaborados con Biocitro son mayores que los elaborados con Propionato de Calcio, esto es debido a la naturaleza del conservante Biocitro. Sin embargo en ninguno de los dos casos se supera el máximo valor permitido de 0.5 % de ácido sulfúrico, según lo establecido en la NTP 206.004.

La mayor aumento de acidez se registró en el tratamiento de Propionato de Calcio 3500 con un valor de 0.015%, así como, en el tratamiento Biocitro 2500 con un valor de 0.020%, para ambos tratamientos los valores son pequeños de modo que no influyen en la calidad organoléptica final del pan de molde blanco.(Gráfica N° 5).

Gráfica N° 5.

Evaluación de la acidez titulable en los panes de molde blanco elaborados con Propionato de Calcio y Biocitro

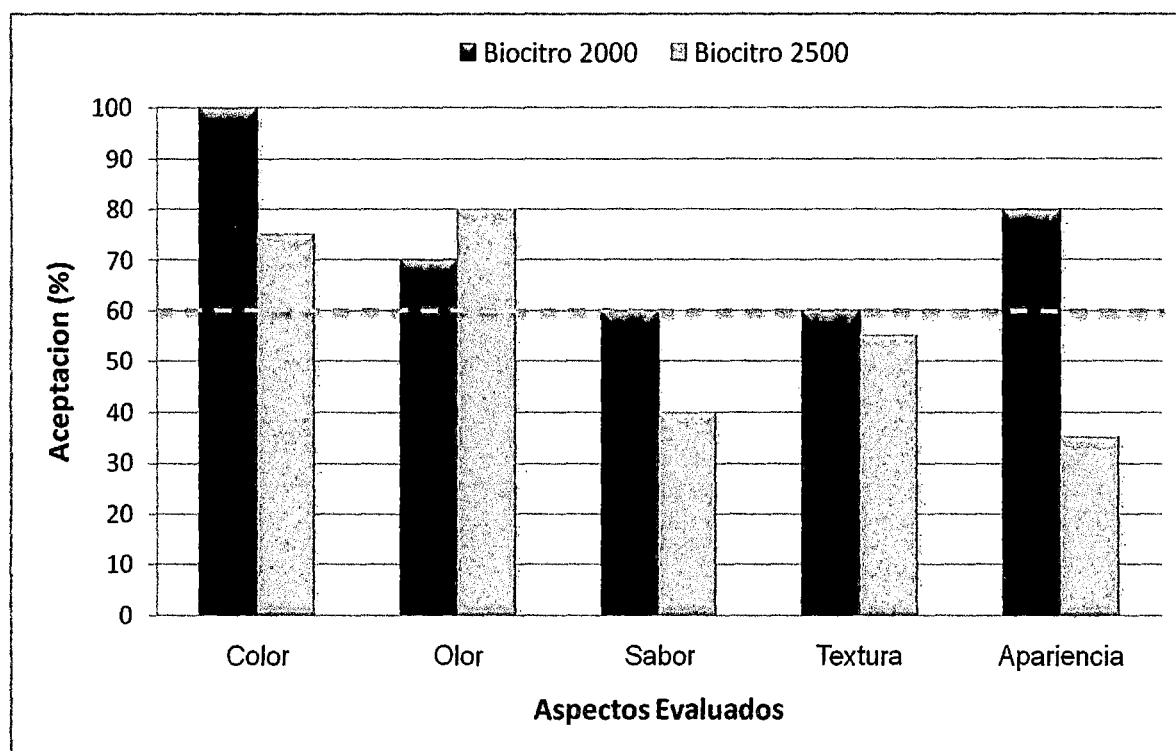


Fuente: Elaboración Propia

5.4 Las pruebas de análisis sensoriales fueron realizadas para establecer la aceptación del pan de molde blanco elaborado con Biocitro en las dos mayores concentraciones (2000 y 2500 ppm). Los análisis sensoriales fueron llevados a cabo en el CET en horas de la mañana. Para la interpretación de los resultados de las pruebas sensoriales se estableció una calificación mínima de 60% como aceptable para cada uno de los aspectos evaluados por cada uno de los panelistas. (Gráfica N° 6).

Los resultados del análisis sensorial de los tratamientos con Biocitro 2000 y Biocitro 2500 se presentan en la Gráfica N° 6, en la que se observa que en los aspectos evaluados de color, sabor, textura y apariencia, el pan de molde elaborado con Biocitro 2000 fue mejor calificado que el pan de molde elaborado con Biocitro 2500. Como se observa el pan de molde elaborado con Biocitro 2000 recibió la mínima calificación aceptable en los aspectos de sabor y textura y excedió el mínimo aceptable en los aspectos de color, olor y apariencia, este no fue el caso del pan elaborado con Biocitro 2500 el cual estuvo únicamente por arriba del mínimo de calificación en los aspectos de color y olor.

**Gráfica N° 6. Evaluación Sensorial de los panes de molde blanco elaborados con Biocitro**



Fuente: Elaboración Propia

5.5 Se evaluó el efecto de la temperatura de almacenamiento a dos rangos ( $19 \pm 3$  °C y  $35 \pm 3$  °C), sobre el crecimiento de mohos en los panes de molde elaborados con el mejor tratamiento de Propionato de Calcio (P-3500) y el mejor tratamiento de Biocitro (B-2000). Se utilizó los resultados presentados anteriormente de las mejores concentraciones de cada conservante (P-3500 y B-2000), ya que estos panes fueron almacenados a  $19 \pm 3$  °C.

En la determinación del efecto inhibitorio de la mejor concentración de Propionato de Calcio (P-3500) sobre el crecimiento de mohos en el pan de molde blanco almacenado a una temperatura de  $35 \pm 3$  °C, consideramos los parámetros cinéticos de crecimiento desarrollados por los mohos y el tiempo de vida útil del pan de molde blanco.

La estimación de la vida útil del pan de molde se realizó en función de la máxima población permitida por la norma sanitaria vigente (NTS N° 071 DIGESA/MINSA), cuya máximo recuento permitido de mohos es  $10^3$  ufc/g ( $3.0 \log$  ufc.g<sup>-1</sup>/hora). Este valor crítico facilitó el trazado de una perpendicular al punto de intercepción de la máxima población permitida y cada curva de crecimiento, estimando de esa manera los tiempos de vida útil para cada pan de molde almacenado a cada rango de temperatura.



El crecimiento de mohos en los panes de molde blanco con P-3500 y almacenados a  $19 \pm 3$  °C, presentó un tiempo de latencia ( $\lambda$ ) de  $172.78 \pm 50.25$  horas, una velocidad máxima de crecimiento ( $\mu$ ) de  $0.015 \pm 0.004$  log ufc.g<sup>-1</sup>/hora, llegando a tener el pan de molde blanco un tiempo de vida útil de  $339.96 \pm 20.16$  horas. Por otro lado, el crecimiento de mohos en los panes de molde con P-3500 y almacenados a  $35 \pm 3$  °C, se caracterizó por que presentó un tiempo de latencia ( $\lambda$ ) de  $168.02 \pm 9.42$  horas y una máxima velocidad de crecimiento ( $\mu_{M\acute{a}x.}$ ) de  $0.020 \pm 0.002$  log ufc.g<sup>-1</sup>/hora, llegando a tener el pan de molde blanco un tiempo de vida útil de  $285.75 \pm 3.79$  horas. (Cuadro N° 8).

**Cuadro N° 8. Parámetros cinéticos de crecimiento de mohos y tiempo de vida útil en panes de molde blanco elaborados con P-3500 a dos rangos de temperaturas:  $19 \pm 3$  °C y  $35 \pm 3$  °C**

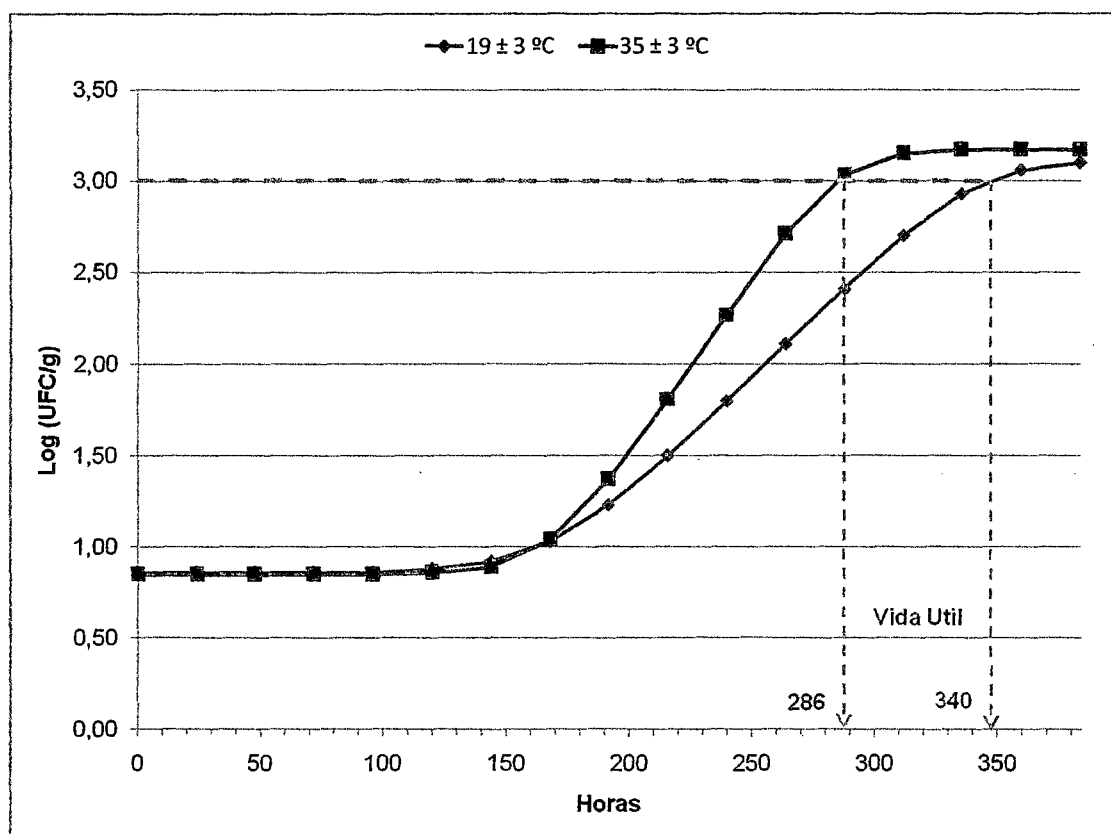
Parámetro	$19 \pm 3$ °C	$35 \pm 3$ °C	% Reducción
$\lambda$ [horas]	$172.78^a \pm 50.25$	$168.02^a \pm 9.42$	2.75 %
$\mu_{M\acute{a}x.}$ [log ufc.g <sup>-1</sup> /hora]	$0.015^a \pm 0.004$	$0.020^a \pm 0.002$	-
V. U [horas]	$339.96^a \pm 20.16$	$285.75^b \pm 3.79$	15.95 %

Superíndices diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ )

**Fuente:** Elaboración Propia

La comparación de los parámetros cinéticos de crecimiento de mohos obtenidos a dos rangos de temperaturas ( $19 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $35 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ ) presentó diferencias estadísticamente significativas  $P_{0.05} < \alpha = 0.05$  para el tiempo de vida útil (V.U):  $F_C = 20.95 > F_T = 7.71$ , y aunque estadísticamente no hay diferencia significativa para el tiempo de latencia ( $\lambda$ ) y la máxima velocidad de crecimiento ( $\mu_{M\acute{a}x.}$ ), la temperatura de almacenamiento si influye en el tiempo de vida útil del pan de molde. (Gráfica N° 7).

**Gráfica N° 7. Curvas de crecimiento promedio de mohos del pan de molde blanco elaborado con P-3500 y almacenado a dos rangos de temperaturas:  $19 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $35 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$**



Fuente: Elaboración Propia

5.6 En la determinación del efecto inhibitorio de la mejor concentración de Biocitro (B-2000) sobre el crecimiento de mohos en el pan de molde blanco almacenado a una temperatura de  $35 \pm 3$  °C, consideramos los parámetros cinéticos de crecimiento desarrollados por los mohos y el tiempo de vida útil del pan de molde blanco.

La estimación de la vida útil del pan de molde se realizó en función de la máxima población permitida por la norma sanitaria vigente (NTS N° 071 DIGESA/MINSA), cuya máximo recuento permitido de mohos es  $10^3$  ufc/g ( $3.0 \log \text{ ufc.g}^{-1}/\text{hora}$ ). Este valor crítico facilitó el trazado de una perpendicular al punto de intercepción de la máxima población permitida y cada curva de crecimiento, estimando de esa manera los tiempos de vida útil para cada pan de molde almacenado a cada rango de temperatura.

Los resultados anteriores para el crecimiento de mohos en los panes de molde con B-2000 y almacenados a  $19 \pm 3$  °C, presentó un tiempo de latencia ( $\lambda$ ) de  $172.01 \pm 4.97$  horas, una velocidad máxima de crecimiento ( $\mu$ ) de  $0.018 \pm 0.004 \log \text{ ufc.g}^{-1}/\text{hora}$ , llegando a tener el pan de molde blanco un tiempo de vida útil de  $299.74 \pm 33.02$  horas.

Por otro lado, el crecimiento de mohos en los panes de molde con B-2000 y almacenados a  $35 \pm 3$  °C, se caracterizó por que presentó un tiempo de latencia ( $\lambda$ ) de  $176.10 \pm 18.02$  horas y una máxima velocidad de crecimiento ( $\mu_{\text{Máx.}}$ ) de  $0.026 \pm 0.004$  log ufc.g<sup>-1</sup>/hora, llegando a tener el pan de molde blanco un tiempo de vida útil de  $260.78 \pm 5.70$  horas. (Cuadro N° 9).

**Cuadro N° 9. Parámetros cinéticos de crecimiento de mohos y tiempo de vida útil en panes de molde blanco elaborados con B-2000 a dos rangos de temperaturas:  $19 \pm 3$  °C y  $35 \pm 3$  °C**

Parámetro	$19 \pm 3$ °C	$35 \pm 3$ °C	% Reducción
$\lambda$ [horas]	$172.01^a \pm 4.97$	$168.20^a \pm 3.93$	2.21%
$\mu_{\text{Máx.}}$ [log ufc.g <sup>-1</sup> /hora]	$0.018^a \pm 0.004$	$0.032^b \pm 0.005$	-
V. U [horas]	$299.74^a \pm 33.02$	$237.47^b \pm 7.78$	20.77 %

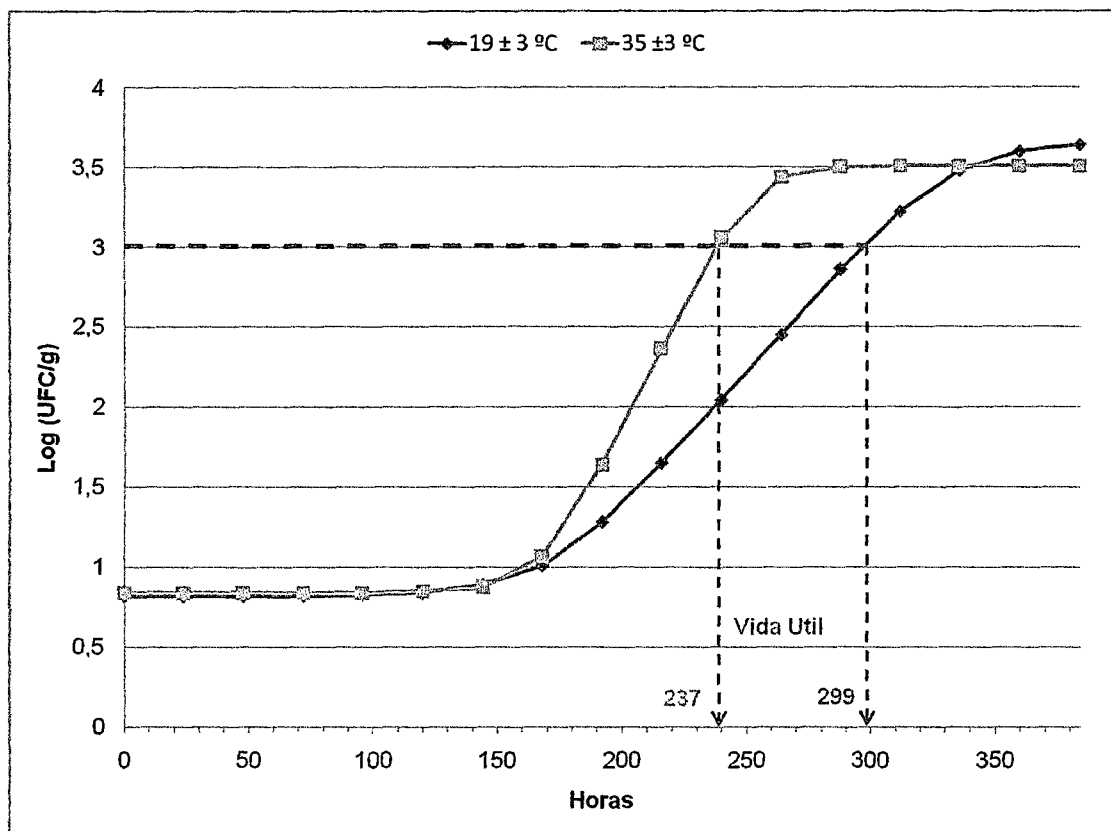
Superíndices diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ )

**Fuente:** Elaboración Propia

La comparación de los parámetros cinéticos de crecimiento de mohos obtenidos a dos rangos de temperaturas ( $19 \pm 3$  °C y  $35 \pm 3$  °C) presentó diferencia estadísticamente significativa  $P_{0.05} < \alpha = 0.05$  para la máxima velocidad de crecimiento ( $\mu_{\text{Máx.}}$ ):  $F_C = 15.10 > F_T = 7.71$  y para el tiempo de vida útil (V.U):  $F_C = 10.11 > F_T = 7.71$ .

Y aunque estadísticamente no hay diferencia significativa para el tiempo de latencia ( $\lambda$ ), la influencia de la temperatura de almacenamiento se observa en la aceleración del tiempo de vida útil (V.U) del pan de molde y en el aumento de la velocidad de crecimiento ( $\mu_{M\acute{a}x.}$ ) de los mohos. (Gráfica N° 8).

**Gráfica N° 8. Curvas de crecimiento promedio de mohos del pan de molde blanco elaborado con B-2000 y almacenado a dos rangos de temperaturas:  $19 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $35 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$**



Fuente: Elaboración Propia

5.7 La determinación del mejoramiento de la calidad sanitaria del pan de molde blanco con el uso del Biocitro, se realizó mediante la comparación de los parámetros cinéticos de crecimiento de mohos y el tiempo de vida útil de un tratamiento control (pan de molde blanco elaborado sin ningún tipo de conservante) y la mejor concentración del conservante Biocitro (B-2000) almacenados a temperatura ambiente de  $19 \pm 3^{\circ}\text{C}$ .

La estimación de la vida útil del pan de molde blanco se realizó en función de la máxima población permitida por la norma sanitaria vigente (NTS N° 071 DIGESA/MINSA), cuya máximo recuento permitido de mohos es  $10^3$  ufc/g ( $3.0 \log \text{ ufc.g}^{-1}/\text{hora}$ ).

El crecimiento de mohos en los panes de molde blanco con el tratamiento control presentó un tiempo de latencia ( $\lambda$ ) de  $40.82 \pm 14.94$  horas, una velocidad máxima de crecimiento ( $\mu$ ) de  $0.020 \pm 0.002 \log \text{ ufc.g}^{-1}/\text{hora}$ , llegando a tener un tiempo de vida útil (V.U) de  $153.22 \pm 5.05$  horas. Por otro lado, el crecimiento de mohos en los panes de molde con B-2000, se caracterizó por que presentó un tiempo de latencia ( $\lambda$ ) de  $172.01 \pm 4.97$  horas y una máxima velocidad de crecimiento ( $\mu_{\text{Máx.}}$ ) de  $0.018 \pm 0.004 \log \text{ ufc.g}^{-1}/\text{hora}$ , llegando a tener el pan de molde blanco un tiempo de vida útil de  $299.74 \pm 33.02$  horas. (Cuadro N° 10).

**Cuadro N° 10. Parámetros cinéticos de crecimiento de mohos y tiempo de vida útil del pan de molde blanco con los tratamientos Control y B-2000**

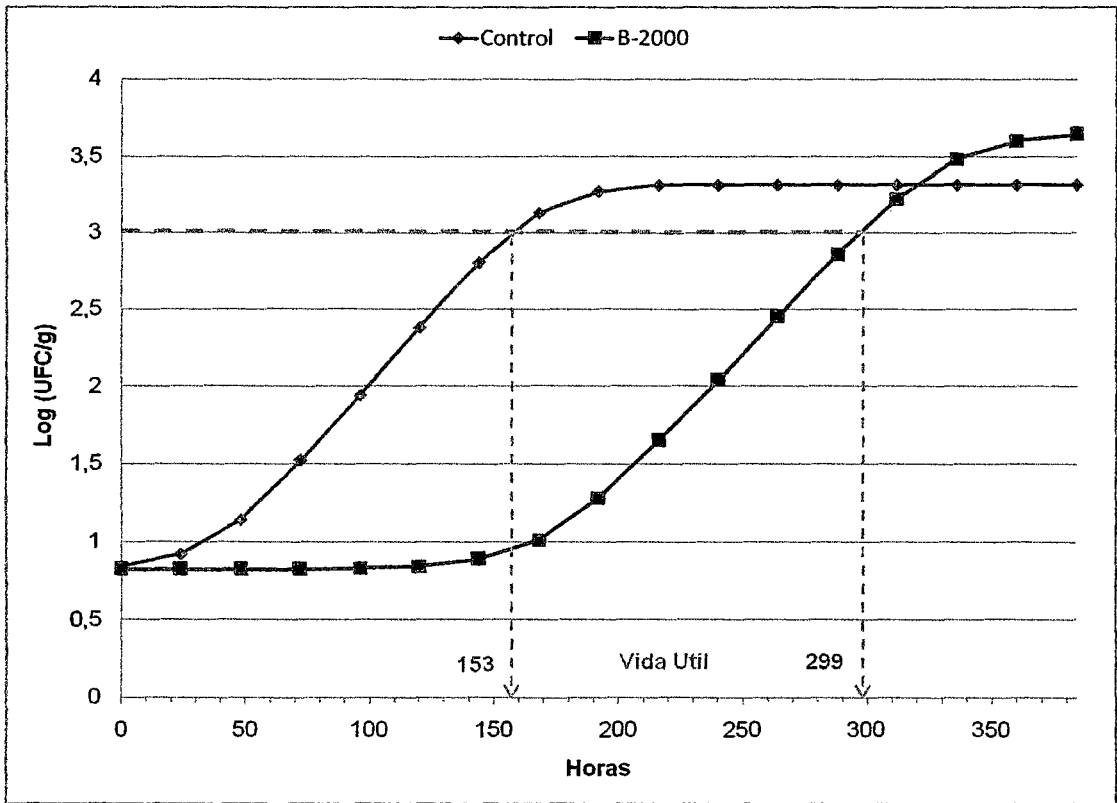
<b>Parámetro</b>	<b>Control</b>	<b>B-2000</b>
$\lambda$ [horas]	40.82 ± 14.94	172.01 ± 4.97
$\mu_{\text{Máx.}}$ [log ufc.g <sup>-1</sup> /hora]	0.020 ± 0.002	0.018 ± 0.004
V. U [horas]	153.22 ± 5.05	299.74 ± 33.02

**Fuente:** Elaboración Propia

La comparación de los parámetros cinéticos de crecimiento de mohos y el tiempo de vida útil obtenidos de los dos tratamientos (Control y B-2000) presentó diferencia estadísticamente significativa  $P_{0.05} < \alpha = 0.05$  (t student) para el tiempo de latencia ( $\lambda$ ) y el tiempo de vida útil (V.U). No hay diferencia significativa para la máxima velocidad de crecimiento ( $\mu_{\text{Máx.}}$ ). (Cuadro N° 11)

Entonces, el mejoramiento de la calidad sanitaria del pan de molde blanco se midió a través del tiempo de latencia ( $\lambda$ ), el cual se mejoró en 131 horas aproximadamente, y el tiempo de vida útil (V.U) el cual aumentó en 146.521 horas, por lo tanto, el tratamiento B-2000 mejoró considerablemente la calidad sanitaria del pan de molde. (Gráfica N° 9).

**Gráfica N° 9. Curvas de crecimiento promedio de mohos del pan de molde blanco elaborado con los tratamientos Control y B-2000**



Fuente: Elaboración Propia

**Cuadro N° 11. Prueba "t student" entre los tratamientos Control y B-2000 ( $\alpha = 0.05$ )**

Parámetros	Valores de $t^{(1)}$	
	t calculado	t tabulado
$\mu_{Max}$ (log UFC.g <sup>-1</sup> /hora)	0.40	< 2.92
$\lambda$ (horas)	22.11	> 2.92
V.U (horas)	8.90	> 2.92

<sup>(1)</sup>Prueba de diferencia de medias:  $H_0: \mu_{control} = \mu_{B-2000}$   $H_1: \mu_{B-2000} > \mu_{control}$

Fuente: Elaboración Propia



## CAPÍTULO VI

### DISCUCIONES

6.1 El efecto inhibitorio de los tratamientos experimentales con las diferentes concentraciones de Propionato de Calcio sobre el crecimiento de mohos que se desarrollaron en el pan de molde blanco almacenado a las temperaturas de  $19 \pm 3$  °C, reveló un corto tiempo de vida útil para el tratamiento P-1500 (0.15% de propionato de calcio) debido a la baja concentración del conservante empleado en la elaboración del pan de molde alcanzando un tiempo de vida útil de 161.33 horas (6.7 días aproximadamente). Al respecto Carrillo (2007) citando a Grundy (1996) indica que algunas pruebas realizadas han corroborado que agregando propionato de calcio en una concentración del 0.1% al pan, la aparición de mohos en el producto se retrasa hasta 8 días (192 horas). La diferencia en el tiempo de vida útil puede deberse a condiciones de producción y almacenamiento, así como también a variaciones en la formulación del pan de molde.

Los panes de molde elaborados con los tratamientos P-2500 y P-3500, presentaron un mayor tiempo de vida útil que el tratamiento P-1500, debido fundamentalmente a la cantidad de conservante agregado. Los resultados obtenidos con el tratamiento P-2500 (0.25% de propionato de

calcio) evidenciaron un control en el crecimiento de mohos hasta las 235.34 horas. Carrillo (2007) citando a Grundy (1996) menciona que si el propionato se agrega en una concentración del 0.2%, la vida útil del producto será de 11 días (264 horas) aproximadamente. Así mismo, el desarrollo de mohos en el pan de molde blanco elaborado con el tratamiento P-3500 (0.35% de propionato de calcio), se vio claramente inhibido hasta las 339.96 horas de vida útil que alcanzó el pan de molde con esta concentración de propionato de calcio. Al respecto, la ficha técnica del Pan de molde blanco 400 g ARO (Ver Anexos), elaborado con 3000 mg/Kg de ácido propiónico, refiere un tiempo de vida útil del producto, desde la fabricación a temperatura ambiente, de 12 días (288 horas). El tratamiento P-3500 alcanzó el mayor tiempo de vida útil presentando un claro efecto fungicida frente a la población de mohos presentes en el pan de molde blanco.

6.2 El efecto inhibitorio de los tratamientos experimentales con las diferentes concentraciones de Biocitro sobre el crecimiento de mohos que se desarrollaron en el pan de molde blanco almacenado a las temperaturas de  $19 \pm 3$  °C, mostró un crecimiento acelerado de mohos para el tratamiento B-1500, debido a que estuvo expuesto a mínimas concentraciones de Biocitro (0.15% de Biocitro), solo alcanzó un tiempo de vida útil de 154.75 horas (6.5 días aproximadamente). Martínez (2008) evaluó la actividad antimicrobiana del aceite esencial de lima logrando

inhibir el crecimiento de *Aspergillus flavus* de manera in vitro obteniendo resultados alentadores. Sin embargo, al evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de Lima en un pan tipo “panque” no obtuvo los mismos resultados concluyendo que es efectivo el aceite de lima in vitro y no en el pan con la formulación utilizada. El uso de aceites esenciales extraídos de diferentes frutos cítricos o plantas aromáticas, ha sido y es estudiado, ya que se ha comprobado que estas sustancias tienen una actividad bacteriostática e incluso en algunos casos hasta bactericida contra un amplio espectro de microorganismos.

Los panes de molde elaborados con los tratamientos de B-2000 y B-2500 presentaron un mayor tiempo de vida útil que el tratamiento B-1500, debido fundamentalmente a la cantidad de conservante agregado. Los resultados obtenidos con el tratamiento B-2000 (0.20% de Biocitro) evidenciaron un control en el crecimiento de mohos hasta las 299.74 horas (12.5 días aproximadamente). Pilco y col. (2009), evaluaron la vida en anaquel del pan artesanal Ezequiel (CITAL) y pan de molde comercial Superbueno, usando aceite esencial del clavo de olor (*Eugenia caryophyllus*) como antimoho. Además, se comparó la efectividad del aceite esencial de clavo de olor con un antimoho comercial (Pargermex, aceite esencial de cítricos), aplicándose en forma de spray al pan Ezequiel. El aceite esencial de clavo de olor presenta la misma capacidad inhibitoria que el antimoho comercial por un periodo de 10 días.

Así mismo, el desarrollo de mohos en el pan de molde blanco elaborado con el tratamiento B-2500 (0.25% de Biocitro), se vio claramente inhibido hasta las 299.55 horas (12.5 días aproximadamente) de vida útil que alcanzó el pan de molde con esta concentración Biocitro. Mejía y Ríos (2008), probaron diferentes formulaciones de pan reemplazando el conservante propionato de calcio por extracto de romero, debido al poder antifúngico y micostático que se le confiere y a la tendencia por los productos naturales. No se presentó una desviación significativa en el análisis comparativo de los atributos físicos y organolépticos, por medio de análisis sensorial, los atributos físicos se conservaron en el tiempo, sin embargo se acentuó el sabor a romero, pero igualmente se acentuó el propionato de calcio de la muestra patrón. Adicional a esto en un periodo de conservación bajo las mismas condiciones no se presentó crecimiento microbiano en el patrón ni en las muestras adicionadas con romero. De igual manera que con el extracto de romero, con el Biocitro a la concentración de B-2500, se acentuó un sabor un tanto ácido notorio, pero de igual forma prolongó el periodo de conservación hasta los 12.5 días aproximadamente.

6.3 Finalmente, la humedad inicial de los panes de molde en todos los tratamientos aplicados se encontraron por debajo e incluso igual que el requisito máximo de humedad exigido por la NTP 206.004, la cual hace referencia a una humedad máxima de 40 %. Así como también, la NMX-F-159-S-1983 (Ver Anexos), que refiere que el pan de molde debe tener un mínimo de 30% de humedad. La diferencia entre la humedad inicial de los panes de molde elaborados se debió principalmente a las variaciones en la temperatura del horno y en pequeñas diferencias en el tiempo de horneado.

Los valores de pH iniciales de los panes de molde blanco elaborados con Propionato de Calcio son mayores que los elaborados con el conservante Biocitro, y esta diferencia es debido principalmente a la naturaleza del conservante ya que proviene de un extracto de frutas cítricas, lo cual hace que obtengamos un pan de molde mucho más ácido lo cual a su vez favorece a la prolongación del tiempo de vida útil. Sin embargo, en ninguno de los tratamientos los pH superan el valor máximo establecido por la NMX-F-159-S-1983, que refiere que el pan de molde debe tener un máximo de 5.80 de pH. Valores similares fueron reportados por Fierro y Jara (2010), quienes reportaron un pH inicial de 5.47 y un pH final de 5.29 después de 9 días de evaluación fisicoquímica.

## **CAPÍTULO VII**

### **CONCLUSIONES**

A partir de los resultados obtenidos en este estudio se obtuvieron las siguientes conclusiones:

7.1 El tratamiento P-3500 (0.35% de Propionato de Calcio) fue el mejor de los tres tratamientos aplicados, ya que prolongó el tiempo de vida útil del pan de molde blanco hasta las 339.96 horas (16.5 días aproximadamente), al término de este tiempo se presentaron indicios de descomposición.

7.2 El tratamiento B-2000 (0.20% de Biocitro) fue el mejor de los tres tratamientos aplicados, ya que prolongó el tiempo de vida útil del pan de molde blanco hasta las 299.74 horas (12.5 días aproximadamente), además, esta concentración fue la que alcanzó el mayor promedio de aceptabilidad en el análisis sensorial.

7.3 La temperatura de almacenamiento tuvo un efecto significativo en el tiempo de vida útil del pan de molde blanco, independientemente del conservante con el que fue elaborado. Para los dos mejores tratamientos (P-3500 y B-2000) se observó una reducción en el tiempo de vida útil entre 16 - 20 %, cuando el pan de molde blanco fue almacenado a temperaturas de  $35 \pm 3^{\circ}\text{C}$ .

7.4 Finalmente, si es posible reemplazar el Propionato de Calcio por el Biocitro, ya que obtuvimos resultados alentadores, que aunque no superaron las expectativas, satisficieron nuestros objetivos, con el agregado de que el Biocitro es un conservante natural y no un producto químico como el Propionato de Calcio.

## CAPÍTULO VIII

### RECOMENDACIONES

Como recomendaciones se propones las siguientes:

- Se recomienda estudiar el efecto de la adición de una combinación del conservante Biocitro, siendo una de las opciones el uso de Biocitro en la masa y también diluido a través de un spray, sobre la superficie del pan de molde una vez salido del horno antes del enfriamiento.
- Se recomienda realizar modificaciones en la formulación del pan de molde a fin de poder enmascarar el sabor ácido que podría generar el uso del conservante Biocitro si se usa en una mayor concentración.
- Se recomienda realizar un estudio de costos para la inclusión del Biocitro en las formulaciones y así poder extender su uso a nivel comercial, ya que se tiene la ventaja de que es un producto de origen natural.



## CAPÍTULO IX

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Academia del Área de Plantas Piloto de Alimentos. (A.A.P.P.A., 2003). Introducción a la tecnología de alimentos. Editorial Limusa. 2da edición. México.
- Adarme V, Tania y Mónica, Rincones L. (2008). Evaluación de cuatro antimicrobianos para el control de levaduras contaminantes de un proceso de fermentación de ácido cítrico. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C. Colombia.
- Anzaldúa Morales, A. (1994). La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y en la práctica. Editorial Acribia. Zaragoza. España.
- Association of Analytical Chemists, AOAC. (1998). Métodos Oficiales de Análisis. Arlington, Virginia. USA.
- Bilheux R. y A. Escoffier. (1990). Taller y técnicas del pan: panes especiales y de fantasía, técnicas y aplicaciones del decorado piezas artísticas; Editorial Garriga. España.
- Boatella R, Josep y col. (2004). Química y Bioquímica de los alimentos II; Edicions Universitat Barcelona, 2004.
- Carrillo-Inungaray, M.L., Ramírez Z, M y J.C. Martínez C. (2006). Efectos de solutos sobre el crecimiento de hongos deteriorativos de

alimentos. Revista Ciencia y Tecnología Alimentaria; Vol. 5 N° 2; págs. 142-146; Universidad Autónoma de San Luis Potosí. México.

- Carrillo M, Alejandra (2007). Evaluación del uso de antimicrobianos sobre la estabilidad de pan parcialmente horneado almacenado en refrigeración. Universidad de las Américas Puebla. México.
- Carrillo y col. (2007). Modelado del Efecto de la Temperatura, Actividad de Agua y pH sobre el Crecimiento de *Rhizopus oryzae*. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Mexico. Información Tecnológica – Vol. 18 N° 4 – 2007. Pág. 57-62.
- Cayré y col. (2007). Selección de un Modelo Primario para Describir la Curva de Crecimiento de Bacterias Lácticas y *Brochothrix thermosphacta* sobre Emulsiones Cárnicas Cocidas. Universidad Nacional del Nordeste. Chaco-Argentina. Información Tecnológica – Vol. 18 N° 3 – 2007. Pág. 23-29.
- CHEMIE S.A. (2009). Biocitro en la Industria de Alimentos. Química Brasileira Ltda.
- COMAPAN S.A. (2011). Pan Blanco. Empresa que impuso el pan tajado en Colombia. Obtenido en: <http://comapan.com.co>
- ComBase Predictor (2010). Herramienta predictiva en respuestas microbianas en el ambiente de los alimentos, Versión en línea. USDA.

- Collazos y col. (1996). "Tablas peruanas de composición de los alimentos". Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud – Centro Nacional de Alimentación y Salud. Lima. Perú.
- Fierro P, H. y J. Jara V. (2010). Estudio de vida útil del pan de molde blanco. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil. Ecuador.
- Frazier W. C. y D.C. Westhoff (1994). Microbiología de los alimentos. Cuarta Edición Española. Ed. Acribia. Zaragoza. España.
- García R, Martha. (2004). Inhibición de *Aspergillus Parasiticus* y *Penicillium digitatum* con mezclas sinérgicas de antimicrobianos naturales y sintéticos en sistemas modelo de puré de manzana mínimamente procesado. Universidad de las Américas Puebla. México.
- Gil Hernández y Serra Majem; LIBRO BLANCO DEL PAN; Editorial Médica Panamericana; 2010; Madrid. España.
- Hernández P, Luz del Carmen. (2003). Actividad inhibitoria y letal de los extractos de ajo para E. Coli y I. Innocua. Universidad de las Américas Puebla. México.
- López Bote, C. (2002). Biocitro® y Calidad de Carne; Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid. G. Omega de Nutrición Animal y Probenas, S.L.
- Madrid, A. (1992). Los Aditivos en los Alimentos. Ed. A.M.V.-Mundi-Prensa. Madrid. España.

- Martínez V, Marlenne. (2008). Evaluación de la actividad antimicrobiana de aceite esencial de Lima. Universidad de las Américas Puebla. México.
- Mejía G. Luis y Blanca Ríos V. Sustitución de Propionato de Calcio en pan por extracto de romero (*Rosmarinus officinalis L.*); Revista Científica Vector, Volumen 3, Enero – Diciembre 2008, págs. 51-56. Universidad de Caldas. Colombia. Obtenida en: [http://vector.ucaldas.edu.co/downloads/Vector3\\_5.pdf](http://vector.ucaldas.edu.co/downloads/Vector3_5.pdf)
- Mesas J.M. y M.T. Alegre. (2002). El pan y su proceso de elaboración. Universidad de Santiago de Compostela. Ciencia y Tecnología Alimentaria. Vol. 3 - Nº 005. Pág. 307-313.
- NMX-F-159-S (1983). Alimentos. Pan Blanco de caja. NORMAS MEXICANAS. Dirección general de normas.
- NTP 206.004 (1988). Pan de Molde: Pan Blanco, Pan Integral y sus Productos Tostados. Norma Técnica Peruana. Indecopi. Perú.
- NTS Nº 071-MINSA/DIGESA-V.01. (2008). "Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humanos".
- Pilco Q, S., QUITO V, M. y S. Quispe C. (2009). Conservación de pan artesanal Ezequiel y pan Superbueno usando aceite esencial de clavo de olor (*Eugenia Caryophyllus*); Revista de Investigación Científica; Vol. 1 Nº 1; págs. 12-17; Universidad Peruana Unión. Perú.

- Piña López, Carmen Eugenia. (2010). Diversidad microbiana, tipo de microorganismos, hongos pluricelulares o mohos. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Bogotá. Colombia. [http://www.unad.edu.co/fac\\_ingenieria/pages/Microbiologia\\_mutime\\_dia/mohos.htm](http://www.unad.edu.co/fac_ingenieria/pages/Microbiologia_mutime_dia/mohos.htm)
- Piñeiro C., Rodriguez E., Padró B. y Granizo J. (2002). Addition of a citric extract to the diet of piglets in the nursery period. European Association for Animal Production.
- Pontón, J y col. (2002). Hongos y Actinomicetos Alergénicos. Revista Iberoamericana de Micología. Bilbao. España.
- Quaglia, Giovani. Ciencia y Tecnología de la Panificación. Editorial Acribia. Zaragoza - España. 1991.
- Revista Panera. Ciencias Básicas de la Panificación, Levaduras, Hongos y Bacterias - Parte III. Obtenido en la red en: <http://peru.grupopanera.com/pages/visor-revistas.php?page=Rev-12>
- Royo F., De Blas I., Anía S., Ortega C. y Muzquiz J. (2001). Uso de Biocitro para el control de patógenos bacterianos que afectan a la trucha arco iris, *Onchorynchus Mikiss*. Morfología y patología animal. Rev. Col Cienc. Pec. Vol. 14, Suplemento 2001.

- Tejero, Francisco. (2005). Conservantes. La lucha contra los mohos. Panadería Española. (2 Vols.) Ed. Montagud. Barcelona. Obtenido de:<http://www.molineriaypanaderia.com/html/articulo.php?articulo=Conservantes.%20La%20lucha%20contra%20los%20mohos>.
- Tobias A. Rafael. (2007). Evaluación Financiera de un establecimiento de panadería-pizzería en la ciudad de Medellín. Universidad EAFIT. Facultad de administración. M.B.A. Medellín. Colombia.

# Apéndice

**APENDICE Nº 1**

**FORMATO DE PRUEBA HEDÓNICA**

**PROYECTO:** "Efecto del Propionato de Calcio y Biocitro sobre el Crecimiento de Mohos en el Pan de Molde Blanco"

**PANELISTA:** \_\_\_\_\_ **FECHA:** \_\_\_\_\_

**EDAD:** \_\_\_\_\_

**PRODUCTO:** Pan de Molde Blanco

---

**INDICACIONES:**

Pruebe por favor la muestra e indique su nivel de agrado marcando con una X el región en la escala que mejor describe su reacción para cada uno de los atributos.

<b>ESCALA</b>	<b>COLOR</b>	<b>OLOR</b>	<b>TEXTURA</b>	<b>SABOR</b>	<b>ACEPTABILIDAD</b>
Me gusta mucho	_____	_____	_____	_____	_____
Me gusta ligeramente	_____	_____	_____	_____	_____
No me gusta ni me disgusta	_____	_____	_____	_____	_____
Me disgusta ligeramente	_____	_____	_____	_____	_____
Me disgusta mucho	_____	_____	_____	_____	_____

**COMENTARIOS:**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**GRACIAS.**



# Anexos



**SECRETARIA DE COMERCIO**

**Y**

**FOMENTO INDUSTRIAL**

**NORMA MEXICANA**

**NMX-F-159-1983**

**"ALIMENTOS - PAN BLANCO DE CAJA"**

*"FOODS - PACKED WHITE BREAD"*

**DIRECCION GENERAL DE NORMAS**

## PREFACIO

En la elaboración de esta norma, participaron los siguientes Organismos:

- ORGANIZACION BIMBO.
- CONTINENTAL DE ALIMENTOS.

"ALIMENTOS - PAN BLANCO DE CAJA"

"FOODS - PACKED WHITE BREAD"

0 INTRODUCCION

Las especificaciones que se señalan a continuación sólo podrán satisfacerse cuando en la fabricación del producto se utilicen materias primas e ingredientes de buena calidad y se elaboren en locales e instalaciones bajo condiciones higiénicas que aseguren que el producto es apto para el consumo humano.

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION

Esta Norma Mexicana establece las especificaciones que debe cumplir el producto denominado "Pan blanco de caja".

2 REFERENCIAS

Esta norma se complementa con las vigentes de las siguientes Normas Mexicanas:

NMX-F-083	Determinación de humedad en productos alimenticios.
NMX-F-066	Determinación de cenizas en alimentos.
NMX-F-068-S	Alimentos - Determinación de proteínas.
NMX-F-089-S	Determinación de extracto etéreo (método Soxhlet) en alimentos.
NMX-F-090-S	Determinación de fibra cruda en alimentos.
NMX-F-317-S	Determinación de pH en alimentos.
NMX-F-253	Cuenta de bacterias mesofílicas aerobias.
NMX-F-255	Método de conteo de hongos y levaduras en alimentos.
NMX-F-308	Cuenta de organismos coliformes fecales.
NMX-F-254	Cuenta de organismos coliformes.
NMX-F-310	Determinación de cuenta de <i>Estafilococos aureo</i> , coagulasa positiva, en alimentos.
NMX-Z-012	Muestreo para la inspección por atributos.

### 3 DEFINICION

Para los efectos de esta norma se establece la siguiente definición:

#### 3.1 Pan blanco de caja

Es el producto alimenticio elaborado mediante cocción por horneado de la masa fermentada; preparada con harina de trigo, agua potable, sal yodada, azúcar, manteca, levadura y otros ingredientes opcionales y aditivos permitidos para alimentos.

### 4 CLASIFICACION Y DENOMINACION DEL PRODUCTO

El producto objeto de esta norma, se clasifica en un sólo tipo y un grado de calidad denominándose "Pan blanco de caja".

### 5 ESPECIFICACIONES

El producto objeto de esta norma debe cumplir con las siguientes especificaciones:

#### 5.1 Sensoriales

##### 5.1.1 Aspecto externo

Cada pieza de pan blanco de caja debe presentar la forma de un paralelepípedo rectangular simétrico pudiendo ser convexa la parte superior y con aristas ligeramente redondeadas.

##### 5.1.2 Color exterior

La superficie de la corteza y de la base debe presentar un color dorado uniforme.

##### 5.1.3 Tipo de corteza

Debe ser delgada, y suave.

##### 5.1.4 Rebanado

Si el producto se presenta rebanado, el espesor de la rebanada debe ser uniforme.

##### 5.1.5 Color de la miga

Puede ser blanco, crema o ligeramente amarillo con un matiz uniforme, sin vetas, manchas ni coloraciones.

5.1.6 Grano

El grano debe ser tal que las celdillas de la miga sean pequeñas y uniformes. La superficie de la miga no debe presentar desgarraduras.

5.1.7 Olor

Característico y agradable.

5.1.8 Sabor

Característico y agradable.

5.1.9 Textura

Suave, firme y no debe ser desmoronable ni pegajoso; no debe ser seco.

5.2 Físicas y químicas

El pan blanco de caja debe cumplir con las especificaciones anotadas en la Tabla 1.

TABLA 1

ESPECIFICACIONES	MINIMO	MAXIMO
Humedad en %	30	38
Cenizas en %		2.5
Proteínas (N x 5.7) en %	7	
Grasa en %	0.8	4
Fibra cruda en %	0.2	0.4
pH	4.5	6.5

5.3 Microbiológicas

5.3.1 El producto objeto de esta norma debe cumplir con las especificaciones microbiológicas anotadas en la Tabla 2.

TABLA 2

ESPECIFICACIONES	Col/g Máximo
Cuenta de hongos	50
Cuenta de levaduras	50
E: Coli	Negativo
Organismos coliformes	10
Cuenta total	15000
Cuenta de Staphylococcus aureus	negativo

5.3.2 Este producto no deberá contener otros microorganismos patógenos ni toxinas microbianas que afecten la calidad sanitaria del producto.

#### 5.4 Materia extraña objetable

El producto objeto de esta norma debe estar libre de : fragmentos de insectos, pelos y excretas de roedor, así como de cualquier otra materia extraña.

#### 5.5 Contaminantes

Los residuos de plaguicidas autorizados deben estar dentro de los límites que señala la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos y la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

#### 5.6 Ingredientes básicos

Harina de trigo, agua potable, levadura activa fresca o seca y sal yodatada.

#### 5.7 Ingredientes opcionales

##### 5.7.1 Grasas

Manteca de cerdo comestible, grasa vegetal parcialmente hidrogenada comestible.

##### 5.7.2 Leche y sus derivados

##### 5.7.3 Edulcorantes

Podrán emplearse como azúcares: Sacarosa, lactosa y maltosa.

##### 5.7.4 Harina de soya desengrasada

Podrá agregarse hasta un 5% sobre la harina de trigo empleada en la formulación.

#### 5.8 Aditivos

Podrán emplearse los siguientes aditivos para alimentos.

##### 5.8.1 Emulsificantes

Podrán emplearse como emulsificantes: lecitina, mono y diglicéridos, derivados de grasas o aceites comestibles y estearil 2- lactilato de sodio, en cantidad tal que no exceda de 0.5 g por 100 g de harina de trigo empleada.

##### 5.8.2 Conservadores

Como conservadores podrán emplearse:

Vinagre de cereales o de alcohol en cantidad suficiente; propionato de sodio o de calcio en tal cantidad que no exceda de 0.32 g por 100 g de harina de trigo empleada; se podrá usar también ácido sórbico en sus sales en cantidad no mayor de 0.16 g por 100 g de harina de trigo empleada.

### 5.8.3 Enzimas amilolíticas y proteolíticas

Podrán emplearse preparados de enzimas de origen microbiano, inocuas a la salud, como las enzimas derivadas de Aspergillus orizae, Bacillus subtilis, u otros permitidos en la cantidad estrictamente necesaria.

### 5.8.4 Acidulantes, alcalinizantes y reguladores de pH

La cantidad total del alimento para levaduras, no debe ser mayor de 1.50 g por cada 100 g de harina de trigo empleada en la formulación.

La cantidad total de fosfato monocálcico no será mayor de 0.75 g por cada 100 g de harina de trigo empleada en la formulación. El ácido láctico será en la cantidad necesaria.

### 5.8.5 Gluten de trigo

Podrá agregarse en cantidad no mayor de 4 g por 100 g de harina de trigo y en caso de que figure en el etiquetado (con gluten de trigo) esta cantidad no será menor de 2 g por 100 g de harina de trigo.

### 5.8.6 Aditivos oxidantes

Bromato de potasio, bromato de calcio, yodato de potasio y peróxido de calcio. Cualquier combinación de dos o más de estos aditivos incluyendo cualquier cantidad presente en la harina de trigo empleada no debe ser mayor de 0.0075 g por 100 g de harina de trigo empleada en la formulación. De azodicarbonamida, la cantidad total incluyendo la cantidad presente en la harina de trigo, no debe ser mayor de 0.0045 g por cada 100 g de harina de trigo empleada.

## 5.9 Nutrimientos

### 5.9.1 Vitaminas, sales de hierro, proteínas y aminoácidos.

## 6 MUESTREO

6.1 El muestreo se establece de común acuerdo entre productor y comprador, a falta de este acuerdo se recomienda el método de muestreo siguiendo las indicaciones de la Norma NMX-Z-012 (Véase 2).

### 6.2 Muestreo Oficial

El muestreo para efectos oficiales estará sujeto a la legislación y disposiciones de la Dependencia Oficial correspondiente, recomendándose el uso de la Norma Mexicana NMX-Z-012 (Véase 2).



## 7 METODOS DE PRUEBA

Para la verificación de las especificaciones físicas, químicas y microbiológicas que se establecen en esta norma se deben aplicar las Normas Mexicanas que se indican en el capítulo de Referencias (Véase 2).

## 8 MARCADO, ETIQUETADO, ENVASE Y EMBALAJE

### 8.1 Marcado y etiquetado

#### 8.1.1 Marcado en el envase

Cada envase del producto, debe llevar en forma permanente visible e indeleble los siguientes datos:

- Denominación del producto
- Nombre o marca comercial registrada, pudiendo aparecer el símbolo del fabricante.
- El "Contenido Neto" de acuerdo con las disposiciones vigentes de la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.
- Lista completa de ingredientes en orden porcentual decreciente.
- Texto de las siglas Reg. S.S.A. No. \_\_\_\_\_ " A", debiendo figurar en el espacio en blanco el número de registro correspondiente.
- Nombre o razón social y domicilio del fabricante.
- La leyenda "HECHO EN MEXICO".

8.1.1.1 La clave que indique la fecha de fabricación podrá expresarse marcada o adherida simbólicamente con colores de acuerdo a lo que se establezca con la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.

#### 8.1.2 Marcado en el embalaje

Deben marcarse los datos necesarios para identificar el producto y todos aquellos otros que se juzguen convenientes tales como las precauciones que deben tenerse en el manejo y uso de los embalajes.

### 8.2 Envase

El producto objeto de esta norma se debe envasar en recipientes de un material resistente e inocuo, que garantice la estabilidad del mismo, que evite su contaminación y no altere su calidad.

8.3 Embalaje

Para el embalaje del producto objeto de esta norma, se deben usar cajas de cartón o cualquier otro material apropiado que tengan la debida resistencia y que ofrezcan la protección adecuada a los envases para impedir su deterioro exterior, a la vez faciliten su manejo en el almacenamiento y distribución de los mismos, sin exponer a las personas que los manipulen.

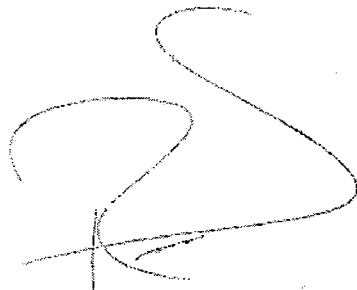
9 BIBLIOGRAFIA

NMX-F-159-S-1979 Pan blanco de caja.

NMX-Z-013-1977 Guía para la Redacción, Estructuración y Presentación de las Normas Mexicanas.

Naucalpan de Juárez, Edo de México, a 31 de Enero, 1983.

EL DIRECTOR GENERAL DE NORMAS.

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized 'R' and 'S' intertwined, with a horizontal line crossing through the middle.

DR. ROMAN SERRA CASTAÑOS.



Cash &amp; Carry España

## Ficha Técnica

Fecha de edición: 31/01/2007

Denominación de producto:	<b>Pan de molde blanco 400g ARO</b>
Descripción de producto:	Pan de molde
Vida del producto desde fabricación (a una Tª concreta):	12 días (a Tª ambiente)
Principales Ingredientes (Incl. porcentajes)	Harina de trigo, agua, azúcar, levadura, aceite de girasol, sal, sólidos lácteos, emulgentes, conservadores, corrector de acidez.
Otros ingredientes:	

	Parámetros relevantes	Unidad	Valor
Características físico-químicas	Humedad	%	≤ 40
	Grasa	%	2 - 4
	Proteínas	%	8 - 10
	Hidratos de Carbono	%	47 - 49
	Cenizas	%	≤ 1,5
	Cloruros	% NaCl	Obj. 1,5
	Acidez	% Ác. Láctico s/s	≤ 0,5
	Ácido sórbico	mg/kg	≤ 2000
	Ácido propiónico	mg/kg	≤ 3000
Los valores de metales pesados, contaminantes radioactivos, micotoxinas, residuos veterinarios y médicos, deberán cumplir los límites y normativas aplicables en aquellos países en los que el producto vaya a ser puesto a la venta.			
Características microbiológicas al final de la vida útil	Enterobacterias	ufc/g	≤ 1 x 10 <sup>2</sup>
	Levaduras	ufc/g	≤ 5 x 10 <sup>2</sup>
	Mohos	ufc/g	≤ 5 x 10 <sup>2</sup>
	Bacillus cereus	en 1 g	Ausencia

### Características organolépticas

Aspecto:	Característico
Olor:	Característico
Sabor:	Característico
Consistencia:	Característica, esponjosa, tierna

### Packaging

	Material	Dimensiones
Envase:		
Embalaje:		
Pallets		

Pan de molde blanco 400g ARO