

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD  
DEL CUSCO**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**MAESTRIA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS**



**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE PREFERMENTOS Y BACTERIAS ACIDO –  
LÁCTICAS (*Saccharomyces boulardii*, y *Lactobacillus lactis*) EN LA  
ELABORACIÓN DE PAN DE TRIGO**

Tesis presentado por:

Bach. Alex Danny Chambi Rodriguez

Asesor:

Dra. Hedy Y. Espinoza Carrasco

Tesis para optar el grado académico de:

Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

**Cusco, 2021**

## Índice General

Índice General.....	i
Índice de Tablas.....	vi
Índice de Figuras .....	vii
Resumen .....	viii
Abstract.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	x
CAPÍTULO I.....	1
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	1
1.1. Situación problemática .....	1
1.2. Formulación del problema.....	2
1.2.1. Problema general .....	2
1.2.2. Problemas específicos.....	2
1.3. Justificación.....	2
1.4. Objetivos de la Investigación .....	3
1.4.1. Objetivo general.....	3
1.4.2. Objetivos específicos .....	3
CAPÍTULO II.....	4
2. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL .....	4
2.1. Bases teóricas .....	4
2.2. Marco conceptual .....	5
2.2.1. Definición de pan.....	5

2.2.3.1.	Harina de Trigo .....	6
2.2.3.2.	Sal.....	7
2.2.3.3.	Levadura.....	7
2.2.3.4.	Grasas .....	8
2.2.3.5.	Azúcar .....	8
2.2.3.6.	Aditivos .....	9
2.2.3.7.	Requisitos mínimos del pan .....	11
2.2.4.	Prefermento.....	12
2.2.4.1.	Bacterias Lácticas.....	13
2.2.4.2.	<i>Saccharomyces boulardii</i> .....	14
2.2.4.4.	<i>Lactobacillus lactis</i> .....	16
2.2.5.	Crecimiento bacteriano .....	17
2.2.5.1.	Crecimiento microbiano en medio líquido.....	17
2.2.5.4.	Fase estacionaria .....	18
2.2.5.6.	Crecimiento microbiano en medio solido .....	19
2.2.5.7.	Modelos predictivos del crecimiento microbiano .....	19
2.2.5.7.1.	Modelos primarios.....	20
2.2.5.7.1.1.	Modelo de Gompertz .....	21
2.2.5.7.1.2.	Modelo Logístico.....	22
2.2.5.7.2.	Modelos secundarios .....	23
2.2.5.7.3.	Modelos terciarios .....	23
2.2.5.8.	Diseños factoriales .....	24

2.2.5.8.1. Conceptos básicos .....	24
2.2.5.8.2. Factores .....	24
2.2.5.8.3. Arreglo factorial .....	24
2.2.5.8.4. Efecto principal y efecto de interacción .....	25
2.3. Antecedentes.....	25
2.3.1. Bacterias presentes en los prefermentos .....	25
2.3.2. Adición de bacterias en masas .....	26
CAPITULO III .....	27
3. HIPÓTESIS Y VARIABLES .....	27
3.1. Hipótesis general .....	27
3.2. Hipótesis específicas.....	27
3.3. Identificación de variables e indicadores.....	27
3.4. Operacionalización de variables.....	28
3.4.1. Variable prefermento .....	28
3.4.2. Variable Bacterias Lácticas.....	28
CAPITULO IV .....	29
4. METODOLOGÍA .....	29
4.1. Ámbito de Estudio .....	29
4.2. Tipo de Investigación. ....	29
4.3. Materia Prima .....	29
4.3.1. Prefermento.....	29
4.3.2. Bacterias Lácticas .....	29

4.3.3.	Formulación del pan .....	30
4.4.	Materiales y Equipos .....	30
4.5.	Reactivos .....	31
4.6.	Elaboración de los prefermentos .....	31
4.7.	Elaboración del pan de trigo.....	32
4.8.	Determinación de las propiedades físicas.....	33
4.8.1.	Volumen.....	33
4.8.2.	pH.....	34
4.8.3.	Acidez Titulable.....	34
4.8.4.	Porosidad .....	34
4.9.	Determinación de la composición Proximal del pan .....	35
4.9.1.	Humedad.....	35
4.9.2.	Ceniza .....	36
CAPÍTULO V .....		39
5. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....		39
5.1.	Propiedades físicas .....	39
5.1.1.	Análisis de volumen, pH y acidez en las masas.....	39
5.1.2.	Análisis de Volumen, densidad, pH, y % de acidez en el pan.....	43
5.1.3.	Análisis de propiedades ópticas.....	45
5.1.4.	Análisis de porosidad.....	46
5.1.5.	Análisis de la composición proximal .....	49
5.1.6.	Análisis Sensorial. ....	51

5.1.7. Crecimiento microbiano .....	54
5.1.7.1. Crecimiento microbiano de <i>Saccharomyces boulardii</i> .....	54
CONCLUSIONES.....	58
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	60
Anexos.....	65
Anexo 1. Preparación de los prefermentos.....	65
Anexo 2. Análisis fisicoquímicos.....	66
Anexo 3. Análisis de Imágenes .....	67
Anexo 4. Formato de encuesta de Evaluación Sensorial.....	68
Anexo 5. Base de datos de análisis realizados a las masas.....	69
Anexo 6. Base de datos de análisis de los tratamientos .....	70

## Índice de Tablas

Tabla 1. Composición proximal del pan por 100g. ....	6
Tabla 2. Criterios fisicoquímicos del pan.....	11
Tabla 3. Criterios microbiológicos para productos horneados .....	11
Tabla 4. Diseño factorial 2 <sup>2</sup> .....	25
Tabla 5. Variables de estudio .....	27
Tabla 6. Formulaciones de panes con adición de prefermentos .....	30
Tabla 7. Elaboración de prefermentos para los tratamientos .....	32
Tabla 8. Modelos de cinética de crecimiento microbiano.....	38
Tabla 9. Análisis estadístico de regresión lineal de volumen en la fermentación .....	40
Tabla 10. Análisis estadístico de regresión lineal de pH en la fermentación .....	42
Tabla 11. Propiedades físicas de los tratamientos.....	44
Tabla 12. Características ópticas de los tratamientos .....	45
Tabla 13. Análisis estadístico del tamaño de la porosidad.....	47
Tabla 14. Análisis Proximal de los tratamientos.....	50
Tabla 15. Perfil sensorial de los tratamientos.....	51
Tabla 16. Cinética de crecimiento microbiano de <i>Saccharomyces boulardii</i> .....	55
Tabla 17. Cinética de crecimiento microbiano de <i>Lactobacillus lactis</i> .....	57

## Índice de Figuras

Figura 1. Formación de la red de gluten.....	6
Figura 2. Representación de la célula de la levadura .....	8
Figura 3. Métodos de procesamiento de pan.....	12
Figura 4. Flujograma de elaboración de masas madres.....	13
Figura 5. Visión microscópica de <i>Saccharomyces boulardii</i> .....	14
Figura 6. Crecimiento microbiano de <i>Saccharomyces boulardii</i> .....	15
Figura 7. Estructura de la nisina.....	16
Figura 8. Acción de <i>Lactobacillus Lactis</i> en el intestino .....	17
Figura 9. Curva de crecimiento de una levadura.....	18
Figura 10. Flujograma de elaboración de masa madre.....	32
Figura 11. Flujograma de elaboración de pan de trigo.....	33
Figura 12. Sistema de Procesamiento de Imágenes .....	35
Figura 13. Incremento de volumen en la fermentación.....	39
Figura 14. Medición de pH en las masas.....	41
Figura 15. Monitoreo de acidez en las masas.....	43
Figura 16. Intervalos de las características ópticas .....	46
Figura 17. Visión de porosidad de cada uno de los tratamientos. ....	48
Figura 18. Gráfica de efectos para los perfiles sensoriales de olor, color, sabor y textura .....	53
Figura 19. Grafica de efectos para la apariencia general.....	54
Figura 20. Cinética microbiana de <i>Saccharomyces boulardii</i> .....	56
Figura 21. Cinética microbiana de <i>Lactobacillus lactis</i> .....	57

## Resumen

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto del uso de prefermentos y bacterias ácido – lácticas (*Saccharomyces boulardii*, y *Lactobacillus lactis*) en la elaboración de pan de trigo. Para tal efecto se aplicó un diseño factorial  $2^2$ , donde los factores fueron el tipo de prefermento (trigo y centeno) y las cepas en estudio (*Saccharomyces boulardii*, y *Lactobacillus lactis*), asimismo, se consideraron como variables de respuesta las propiedades físicas (Volumen, pH, acidez, porosidad) tanto en las masas y panes, también, se evaluó las propiedades cromáticas (CIE – LAB), asimismo, la composición proximal, el perfil sensorial y la cinética microbiana mediante los modelos matemáticos de Gompertz y Logístico, los resultados mostraron que en el volumen de las masas, el tratamiento compuesto por trigo y *Saccharomyces boulardii* (SB) presentaron un mejor desempeño con un  $R^2$  de 0,96, asimismo, el pH fue menor en las masas presentaron valores que oscilan entre 4,66 a 5,58 y con respecto al porcentaje de acidez estas presentaron valores entre 1 a 2.3 % de acidez láctica, asimismo el tratamiento con trigo y *Saccharomyces boulardii* presento un volumen de  $111,66 \pm 12,58$   $\text{cm}^3$ , con respecto a la composición proximal se observó que existe un efecto positivo de las cepas en estudio con un valor p de 0.049; también se encontró que la cepas y los tipos de masas tienen efectos positivos en los atributos sensoriales siendo el más resaltante la apariencia general donde el más valorado con  $7,07 \pm 1,87$  fue el tratamiento con masa de trigo y SB en el caso de la cinética microbiana el mejor ajuste se dio en modelo de Gompertz con la cepas de harina de trigo. En conclusión, se demostró que tanto las masas de trigo y centeno, asimismo, las cepas presentan un efecto positivo en todos los atributos analizados.

**Palabras Clave:** Masas madre, *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus lactis*, Cinética microbiana, elaboración de pan.

## Abstract

The objective of the present investigation was to evaluate the effect of the use of preferments and lactic acid bacteria (*Saccharomyces boulardii*, and *Lactobacillus lactis*) in the production of wheat bread. For this purpose, a factorial design 22 was applied, where the factors were the type of preferment (wheat and rye) and the strains under study (*Saccharomyces boulardii*, and *Lactobacillus lactis*), likewise, the physical properties (Volume , pH, acidity, porosity) both in the doughs and breads, also, the chromatic properties (CIE - LAB) were evaluated, likewise, the proximal composition, the sensory profile and the microbial kinetics by means of the mathematical models of Gompertz and Logistic, the Results showed that in the volume of the masses, the treatment composed of wheat and *Saccharomyces boulardii* (SB) presented a better performance with an R2 of 0.96, likewise, the pH was lower in the masses presented values that oscillate between 4.66 at 5.58 and with respect to the percentage of acidity, these presented values between 1 to 2.3% of lactic acidity, likewise the treatment with wheat and *Saccharomyces boulardii* presented a volume of  $111.66 \pm 12.58$  cm<sup>3</sup>, with res Regarding the proximal composition, it was observed that there is a positive effect of the strains under study with a p value of 0.049; It was also found that the strains and the types of dough have positive effects on the sensory attributes, the most striking being the general appearance where the most valued with  $7.07 \pm 1.87$  was the treatment with wheat dough and SB in the case of microbial kinetics the best fit was in the Gompertz model with wheat flour strains. In conclusion, it was shown that both the wheat and rye doughs, likewise, the strains present a positive effect on all the attributes analyzed.

**Keywords:** Sourdoughs, *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus lactis*, Microbial kinetics, making bread.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad la demanda de productos alimenticios con alto valor nutricional y efectos positivos en la salud ha llevado a la industria de la panificación el planteamiento de nuevos retos, tales como el enriquecimiento con granos, cereales, leguminosos, oleaginosas e incluso pulpa de frutas y hojas de plantas medicinales, asimismo, existe una tendencia creciente por el consumo de panes elaborados con prefermentos siendo estos elaborados a partir de iniciadores (masas madres) compuestos de harina refinadas de trigo más agua, lo mismo que harinas integrales (cereales, oleaginosos y granos) más agua; algunos autores hacen mención el uso de mezclas de frutas y harinas, Las investigaciones realizadas durante las últimas tres décadas mostraron que el uso de masas madre recién preparadas, que contienen una comunidad microbiana heterogénea (bacterias del ácido láctico y levadura), mejora la calidad del pan en términos de rendimiento tecnológico creciente, como volumen, textura, sabor, valor nutricional y vida útil y / o dirigidas a determinadas propiedades.

El proceso de masa madre se desarrolló de acuerdo con la materia prima, las condiciones de fermentación y las actividades de los microorganismos Ya que la producción espontánea depende de la microflora contenida en la harina y la calidad estándar de la masa madre no se pueden lograr debido a los efectos de factores como la temperatura que puede variar en diferentes estaciones, las características definidas de la masa madre pasan a primer plano en términos de proporcionar una calidad constante en la masa madre preparada con variedades estables seleccionadas de *Lactobacillus*. La práctica más común es utilizar masas madre, especialmente aquellas creadas combinando más de una cepa seleccionada. Según Valdovinos et al. (2019) indica que, los alimentos probióticos son de mucho beneficio para el consumidor, entre sus bondades se destacan, el desarrollo normal del sistema inmunitario, la regulación de respuesta ante patógenos;

entre los microorganismos presentes en los alimentos probióticos tenemos algunas como *Lactobacillus fermentum*, *Bifidobacterim bifidum*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces boulardii*; siendo esta última que puede generar efectos farmacodinámicos fisiológicos al de la flora intestinal normal, asimismo, estudios realizados demostraron la viabilidad de esta en productos alimenticios como quesos, brotes de frijol, tunta, entre otros (Rodríguez y Chambi, 2019; Swieca et al., 2019; Vega et al., 2016).

## CAPÍTULO I

### 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 1.1. Situación problemática

En la actualidad la demanda de los alimentos enriquecidos ha adquirido fuerza por la alimentación saludable, debido a que se ha considerado esta como una forma de prevención y /o tratamiento de enfermedades (Prieto et al., 2008); sin embargo, la disposición de estos se ve limitada por factores como los económicos, tecnológicos, entre otros; esto se debe a que se sobrevaloran o se producen a baja escala, como es el caso de los productos horneados entre los cuales están los cup cakes, barras energéticas, granolas, panes, siendo estos últimos los más estudiados.

Por otro lado, el pan que se consume carece de muchos nutrientes ya que desde el proceso de molienda se retira el salvado del trigo y gran parte del germen componentes con valor nutritivo entre los cuales se destaca la niacina, vitamina E, el complejo vitamínico B, minerales como el selenio, Zinc ; Durante el proceso de elaboración se usan muchos aditivos para acelerar las reacciones tal es el caso de la fermentación aplicando mejoradores y levaduras industriales ahorrando tiempo, sin embargo, el uso de estas solo promueve la adición de CO<sub>2</sub> y alcohol evitando así la formación de otros compuestos que son parte de la reacción bioquímica de las levaduras en los componentes de la harina; Según Cauvain & Young (2007) mencionan que a lo largo de la fermentación se generan compuestos químicos que hacen variar el sabor dependiendo de las bacterias presentes ya que estas modifican la acidez dependiendo del tiempo en la que estas actúan; por esto que una fermentación rápida carece de lo antes mencionado la adición de algunos componentes haciendo del pan actual un alimento de baja calidad (Galindo et al., 2016).

## 1.2. Formulación del problema

### 1.2.1. Problema general

- ¿Qué efecto tendrán los prefermentos y bacterias ácido – lácticas (*Saccharomyces boulardii*, y *Lactobacillus lactis*) en la elaboración de pan de trigo?

### 1.2.2. Problemas específicos

- a) ¿Qué características físicas, composición proximal y nutricionales aportará el uso de los prefermentos y bacterias lácticas?
- b) ¿Cómo se desarrollarán las bacterias lácticas en las masas de panificación?

## 1.3. Justificación

El pan es uno de los alimentos demás bajo costo y uno de los más importantes en la dieta de las familias y gracias a su versatilidad esta puede ser enriquecida con componentes altamente nutricionales, diseñando así panes funcionales de manera que se pueden generar aportes significativos en la composición nutricional, características organolépticas, entre otros. (Zuleta et al., 2012) En el presente proyecto se propone la utilización de prefermentos y bacterias ácido – lácticas, ya que el uso de prefermentos permitirá el desarrollo bioquímico de los microorganismos generando así metabolitos que puedan mejorar las características físicas, proximales y sensoriales de manera que se podrá evaluar el efecto que esta producirá en el pan (Galindo et al., 2016), Asimismo, en el uso de bacterias lácticas se podrá observar el incremento de biomasa en función al tiempo en la cual se aplicaron modelos matemáticos y de esta forma analizar el comportamiento de los microorganismos en cuestión; por otro lado analizar los metabolitos producidos por las bacterias que son directamente medidos en el pH, acidez, composición de macronutrientes, y también físicas; como porosidad y volumen.

## **1.4. Objetivos de la Investigación**

### **1.4.1. Objetivo general**

- Evaluar el efecto del uso de prefermentos y bacterias ácido – lácticas (*Saccharomyces boulardii* y *Lactobacillus lactis*) en la elaboración de pan de trigo.

### **1.4.2. Objetivos específicos**

- Determinar el efecto del prefermento en las propiedades físicas y cromáticas de los tratamientos
- Evaluar la composición proximal y características sensoriales en el pan de trigo.
- Determinar la curva de crecimiento microbiano de *Saccharomyces boulardii*, y *Lactobacillus lactis* en los prefermentos

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

#### 2.1. Bases teóricas

A continuación, se presentan las bases teóricas que sustentan la investigación sobre la evaluación del efecto de prefermentos y bacterias ácido – lácticas (*Saccharomyces boulardii*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus vulgaricus*) en la elaboración de pan de trigo.

Este estudio analiza el efecto de los prefermentos en el proceso de fermentación del pan ya que Flores & Chavez (2006), afirman que el uso de estas puede generar cambios significativos en las propiedades de las masas y por ende en las del pan, en este los autores hallaron bacterias lácticas y levaduras al ser sometidas a una fermentación lenta estas pueden desarrollarse y generar metabolitos que benefician en la producción del pan. Asimismo Li, Li, & Bian (2016) declara que la aplicación de los prefermentos puede garantizar la calidad del producto debido a su desarrollo, permitiendo el desarrollo bacteriano y de las reacciones bioquímicas que se dan en la fermentación debido a que es un proceso lento.

Por otro lado, la adición de bacterias lácticas aisladas a masas no es nuevo puesto que León et al. (2006) demostró que las bacterias aisladas pueden utilizar los sustratos encontrados y así generar metabolitos modificando el pH, acidez, e incluso propiedades reológicas; de modo que añadir bacterias como *Saccharomyces boulardii* considerada una cepa probiótica que genera efectos beneficiosos en la persona que la ingiere (Sánchez, Ruiz, & Morales, 2015).

## **2.2. Marco conceptual**

### **2.2.1. Definición de pan**

Mesas & Alegre (2002) definen el pan como producto perecedero resultante de la cocción de una masa obtenida por la mezcla de harina de trigo, sal comestible y agua potable, fermentada por especies propias de la fermentación panaria, como *Saccharomyces cerevisiae*.

### **2.2.2. Composición proximal del pan**

Según Cauvain & Young (2007), el pan y otros productos a base de cereales se han convertido en alimentos "básicos" en todo el mundo y se han establecido como parte integral de muchas dietas modernas. Asimismo, las cualidades nutricionales de los cereales están bien establecidas, y la mayor parte del aporte nutricional de esta categoría proviene de productos a base de trigo. Sin embargo, se observa pequeños cambios en las cualidades nutricionales como resultado de los procesos de transformación como la molienda y horneado, pese a esto los panes a base de trigo continúan proporcionando fuentes significativas de proteínas, carbohidratos complejos (principalmente almidón), fibra, vitaminas y minerales. Las contribuciones nutricionales son mayores en los panes integrales (de trigo integral) ya que requieren la conversión del 100% del grano en harina.

En las harinas blancas de menor extracción, la eliminación de algunos de los componentes de salvado y germen del grano de trigo cambia las cualidades nutricionales generales del producto resultante, aunque a pesar de esto, los panes blancos continúan haciendo contribuciones significativas a la dieta (Tabla 1).

Tabla 1

*Composición proximal del pan por 100g.*

<b>Componente</b>	<b>Blanco</b>	<b>Marrón</b>	<b>Integral</b>
<b>Carbohidratos</b>	49.3	44.3	41.6
<b>Proteínas</b>	8.4	8.5	9.2
<b>Fibra Dietaria</b>	2.7	4.7	7.1
<b>Grasa</b>	1.9	2.0	2.5

Fuente: Cauvain & Young (2007)

### 2.2.3. Ingredientes

#### 2.2.3.1. Harina de Trigo

Dado que la formación de gluten (Figura 1) es un componente esencial de los procesos de panificación y el trigo es el contribuyente de las proteínas necesarias para su formación, se deduce que un factor significativo que determina la calidad final del pan proviene del trigo a través del flúor del molino. El nivel y la calidad de las proteínas formadoras de gluten dependen en gran medida de la variedad de trigo, las prácticas agrícolas, los efectos ambientales y las prácticas de molienda.

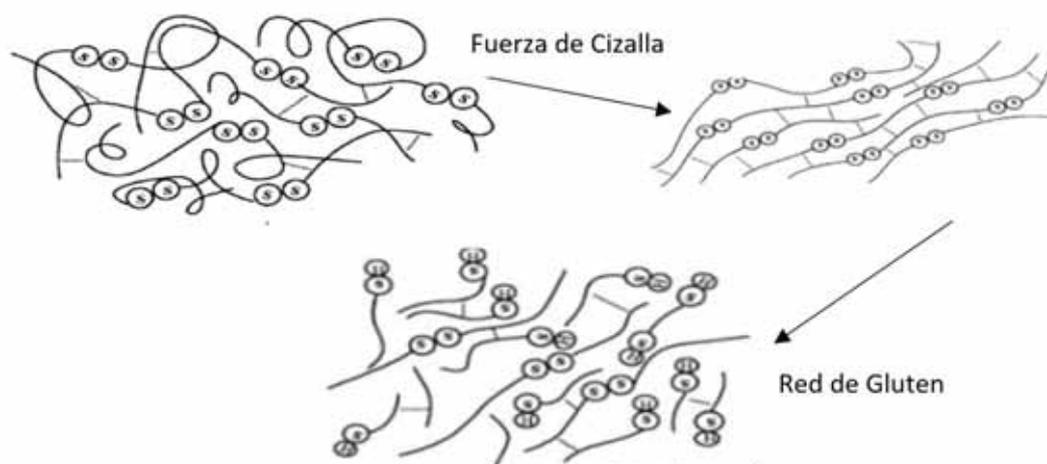


Figura 1. Formación de la red de gluten  
Fuente: Abang, Chin, & Yusof (2010)

El contenido de proteínas de la harina de trigo varía según los trigos que usan los molineros y los ajustes que pueden hacer en el molino. En general, cuanto mayor es el contenido de proteína en el trigo, mayor es el contenido de proteína de la harina producida

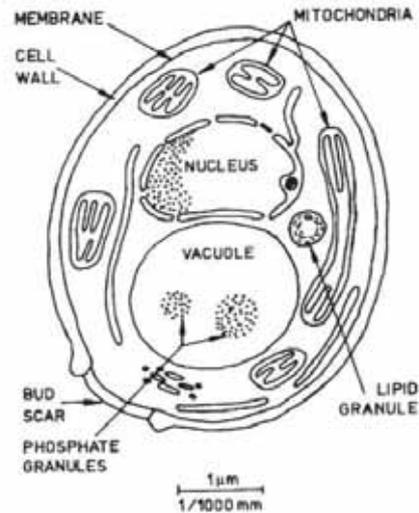
a partir de él. Cuanto mayor sea el contenido de proteína de una harina, mejor será su capacidad para atrapar y retener el gas de dióxido de carbono y mayor será el volumen del pan. Muchas variedades de trigo de América del Norte y Australia tienen un mayor contenido de proteínas que la mayoría de los trigos europeos y esto ha llevado a la opinión común de que obtendrá un mejor pan de esos trigos. Sin embargo, con los cambios que se han producido en los procesos de fabricación de masa, esta vista está desactualizada (Cauvain & Young, 2007).

#### **2.2.3.2.Sal**

Su objetivo principal es dar sabor al pan, está muy es importante porque hace la masa más tenaz, actúa como regulador de la fermentación, favorece la coloración de la corteza durante la cocción y aumenta la capacidad de retención de agua en el pan (Mesas & Alegre, 2002).

#### **2.2.3.3.Levadura**

Se denomina levadura (Figura 2) a un organismo vivo (S. Cauvain & Young, 2007) que es el ingrediente encargado de la formación de metabolitos primarios tales como gases ( $\text{CO}_2$ ) y etanol mediante el proceso de fermentación de los macronutrientes presentes en la masa panaria; siendo el  $\text{CO}_2$  que queda atrapado en la masa panaria generando una mezcla de fases (sólido – gaseoso) otorgando así volumen al pan; asimismo como parte de la acción bioquímica de estas se generan metabolitos secundarios que generan cambios en las propiedades organolépticas de este producto en concreto una cierta acidez. (Mesas & Alegre, 2002).



*Figura 2.* Representación de la célula de la levadura  
Fuente: Cauvain & Young (2007)

#### **2.2.3.4. Grasas**

La adición de grasas (manteca, margarina, mantequilla, y en algunos casos aceite) tiene la finalidad de reblandecer la miga, obteniendo mejora en la calidad del pan y asimismo prolongando la vida útil del producto; estas sustancias mejoran las características de las masas, donde estas pueden estar distribuidas en finas capas entre los hilos del gluten de la masa, produciendo un efecto lubricante, da una masa suave y uniformidad pronunciada. Además, mejora la presentación organoléptica de los productos horneados (Color, textura, y sabor).

#### **2.2.3.5. Azúcar**

El azúcar funciona como ablandador al igual que la grasa vegetal, en los productos horneados. Además de dulzor, el azúcar también tiene la propiedad de retener humedad.

Permite conservar el pan por más tiempo por la propiedad higroscópica que permite absorber humedad. Ayuda a una rápida formación de la corteza del pan, debido a la caramelización por una parte y a la reacción de Maillard entre azúcares reductores (maltosa, dextrosa y levulosa) y las proteínas de la harina; esto permite temperaturas de

horno más bajas, rápida cocción y mayor cantidad de agua retenida en el producto final. El azúcar es el alimento para la levadura ayudándolo en el metabolismo, permitiendo la acción de las enzimas.

Quaglia (1991) menciona que la levadura ataca a los azúcares fermentables (dextrosa y levulosa) que están presentes en la harina, como la maltosa formada en la hidrólisis del almidón, por eso su importancia en la disposición de azúcares para producir CO<sub>2</sub> que sirva para elevar la masa según la reacción química (Ecuación 1):



#### 2.2.3.6. Aditivos

En la elaboración de algunos panes como es el caso de molde y otros se permite el uso de varios aditivos según la Norma INTINTEC 206.004 (1988), el mismo que es verificado por la autoridad sanitaria tanto el grado de pureza, entre los aditivos podemos destacar:

Los agentes antioxidantes como Azodicarbomida (ADA en 45 mg/Kg), Yodato de K y Ca (75 mg/Kg) y Cloruro (90 mg/Kg). La oxidación establece una estructura estable en el sistema de la masa. Emulsificantes Como los Glicéridos (etoxilados), Gliceridos (mono y di) de ácidos grasos dietéticos, Lecitina, Esteres poliglicerol, Esteres propilengicol de ácidos grasos, Compuestos sorbitan, Aceite de soya, Esteres estearil, ácido dactílico-2-estearol y sus sales de Ca y Na; asimismo, se maneja emulsificantes que favorecen la mezcla de las moléculas de agua y grasa en la formación de la masa, estas mejoran de las propiedades físicas de los productos cocidos, además obtienen migas más flexibles, con alveolos más finos y uniformes (Tejero 2012).

Estos permiten disminuir las variaciones de calidad en la harina y obtener productos más homogéneos; además, los emulsionantes permiten mejorar el rendimiento en los

productos de panificación (volumen, estructura del pan, terneza). Su rol de agente “lubricante” en las masas, permiten un buen mezclado de los diferentes ingredientes. La masa de pan puede ser considerada como un sistema muy complejo, compuesto de diferentes emulsiones: partículas en suspensión, líquidos y gas, que deben formar un solo sistema homogéneo. Los emulsionantes ayudan a formar la mezcla y pueden así acelerar el proceso de fabricación (Castelli 2002). Algunos emulsionantes interactúan con el almidón, modificando las temperaturas de gelatinización y la viscosidad, y combinarse con la amilasa de la harina. Las consecuencias sobre la suavidad y la conservación de los panes, son bien conocidas. Otro tipo de interacción se produce con las proteínas: ciertos emulsionantes acentúan la red de gluten aumentando el volumen del pan y otorgando tolerancia a las masas (fabricación, máquinas) como así también a la variación de los ingredientes (Castelli 2002). Enriquecedores Como Tiamina (Dosis mínima 4.4 mg/Kg), Riboflavina (Dosis mínima 2.6 mg/Kg), Niacina (Dosis mínima 35.0 mg/Kg) y Hierro (Dosis mínima 28.0 mg/Kg). Son aditivos que permiten mejorar el nivel nutritivo del pan.

Las enzimas se fabrican mezclas para casi todas las aplicaciones y cada una está destinada para dar cierta funcionalidad: Las pentosanas otorgan volumen y suavidad. Incrementan la absorción de agua y la tolerancia de la masa. La amilasa fungal como la bacteriana tienen efecto especial en el pan y en algunos casos también otorgan extensibilidad a la masa. La glucosa oxidasa le otorga al pan mayor volumen y une la red de gluten. La lipasa es una enzima que otorga suavidad a la miga (Castelli 2002).

Conservadores Como ácido propiónico y sus sales de Ca y Na (4000 mg/kg), ácido sórbico y sus sales de Ca, K y Na (1500 mg/Kg). Estos aditivos prolongan el tiempo de vida útil del producto. Colorantes y saborizantes Los saborizantes naturales y artificiales permitidos por la autoridad sanitaria y colorantes de acuerdo a la Norma NTN 209.134, 1988. Sirven para dar color y aromatizar al producto y dar una mejor calidad al producto.

### 2.2.3.7. Requisitos mínimos del pan

En cumplimiento a la normativa vigente el pan debe de contar con requisitos mínimos entre los cuales destacamos los criterios fisicoquímicos (Tabla 2) y criterios microbiológicos (Tabla 3).

Tabla 2

#### *Criterios fisicoquímicos del pan*

Producto	Parámetro	Límites Máximos permisibles
<b>Pan Molde</b> (Blanco, integral y sus productos tostados)	Humedad	40% - Pan de molde 6% - Pan tostado
	Acidez (expresada en ácido sulfúrico)	0,5% (Base seca)
	Cenizas	4,0% (Base seca)
<b>Pan Común o de labranza.</b> (Frances, baguette, y similares)	Humedad	23% (min) – 35% (máx)
	Acidez (expresada en ácido sulfúrico)	No más del 0,25% calculado sobre la base de 30% de agua
<b>Biscochos y similares con y sin relleno</b> (Paneton, chancay, panes con dulce, pan de camote, pan de papa, tortas, tartas, pasteles y otros similares)	Humedad	40%
	Cenizas	0,70%
	Acidez (expresada en ácido láctico)	3%

Nota: Adaptada de la RM N° 1020 – 2010/MINSA

Tabla 3

#### *Criterios microbiológicos para productos horneados*

Agente microbiano	Categoría	Clase	N	C	Limite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
Escherichia coli (*)	6	3	5	1	3	20
Staphylococcus aureus (*)	8	3	5	1	10	10 <sup>2</sup>
Clostridium perfringens (**)	8	3	5	1	10	10 <sup>2</sup>
Salmonella sp (*)	10	2	5	0	Ausencia /25 g	-
Bacillus cereus (***)	8	3	52	1	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>

Nota: (\*) Para productos con relleno; (\*\*) Adicionalmente para productos con rellenos de carne y/o vegetales; (\*\*\*) Para aquellos con harina de arroz y/o maíz.

Fuente: Adaptada de la RM N° 1020 – 2010/MINSA

#### 2.2.4. Prefermento

Quintero & Rueda (2008) mencionan que para la elaboración del pan existen varios métodos cuya diferencia radica principalmente en la forma de preparación de la masa, entre ellos: método directo, procesado rápido, desarrollo mecánico y esponja y masa; este último es el más aplicado en la industria porque con él se obtienen mejores propiedades reológicas de la masa, un proceso controlado, un buen desarrollo final de masa y un producto con mejores características de sabor y aroma.

Existen muchos tipos de pan alrededor del mundo, debido a factores tradicionales y tecnológicos, por otro, la disposición de la materia prima utilizada en su elaboración también es determinante para los tipos de pan (Hui et al., 2007). Sin embargo; los principales métodos utilizados para preparar el pan se resumen en la Figura 3.

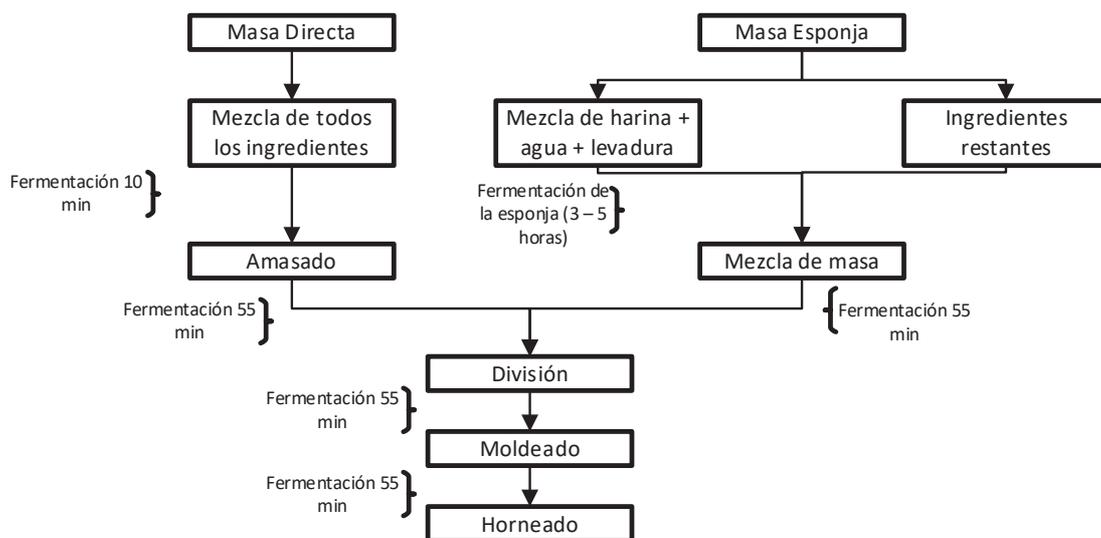


Figura 3. Métodos de procesamiento de pan  
Fuente: Cauvain, (2012)

En el método de la masa directa, todos los ingredientes se agregan al inicio del proceso, lo que incluye dos pasos de fermentación y luego dos pasos de prueba. En el método de esponja y masa, solo una parte de los ingredientes secos se agregan al agua, y esta masa suave realiza una fermentación de aproximadamente 5 horas antes de agregar el resto de los ingredientes y amasar para desarrollar la masa. Aunque estos procesos

requieren mucho tiempo, sus ventajas son que desarrollan un buen sabor en el pan y que la sincronización y la tecnología de los procesos son menos críticas.

Por otro lado, en ciertos sectores se usa los prefermentos o llamados masas madres, donde los componentes básicos son agua y harina de trigo o centeno, el procedimiento de elaboración de este prefermento se aprecia en la Figura 4, en este lleva múltiples reacciones bioquímicas que conllevan a la formación de metabolitos (Montanari et al., 2014); debido a la presencia de bacterias ácido lácticas.

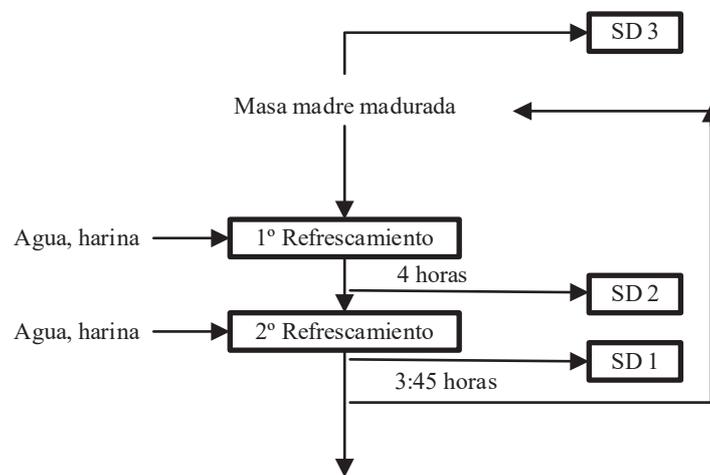


Figura 4. Flujograma de elaboración de masas madres  
Fuente: Montanari et al., (2014)

#### 2.2.4.1. Bacterias Lácticas

Las bacterias lácticas son un grupo de microorganismos representados por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común. En general las BAL son cocos Gram positivos no esporulados, no móviles, anaerobios, microaerofílicos o aerotolerantes; oxidasa, catalasa y benzidina negativas, carecen de citocromos, no reducen el nitrato a nitrito y producen ácido láctico como el único o principal producto de fermentación de carbohidratos (Ramírez et al., 2011).

#### 2.2.4.2. *Saccharomyces boulardii*

*Saccharomyces boulardii* (Figura 5) es considerado como probiótico; ya que, en su recorrido por el tracto gastrointestinal, genera efectos fármaco dinámicos semejantes a los efectos fisiológicos de la flora intestinal normal (Miranda, 2009). Sobre el origen de esta levadura Buts (2005) indica que, fue aislada de la corteza del árbol del itchee en Indochina, y no fue hasta principios de los años 50 cuando se empleó en Francia para tratar un caso de desorden diarreico (McFaland y Bernasconi, citado por De llanos R. 2007).

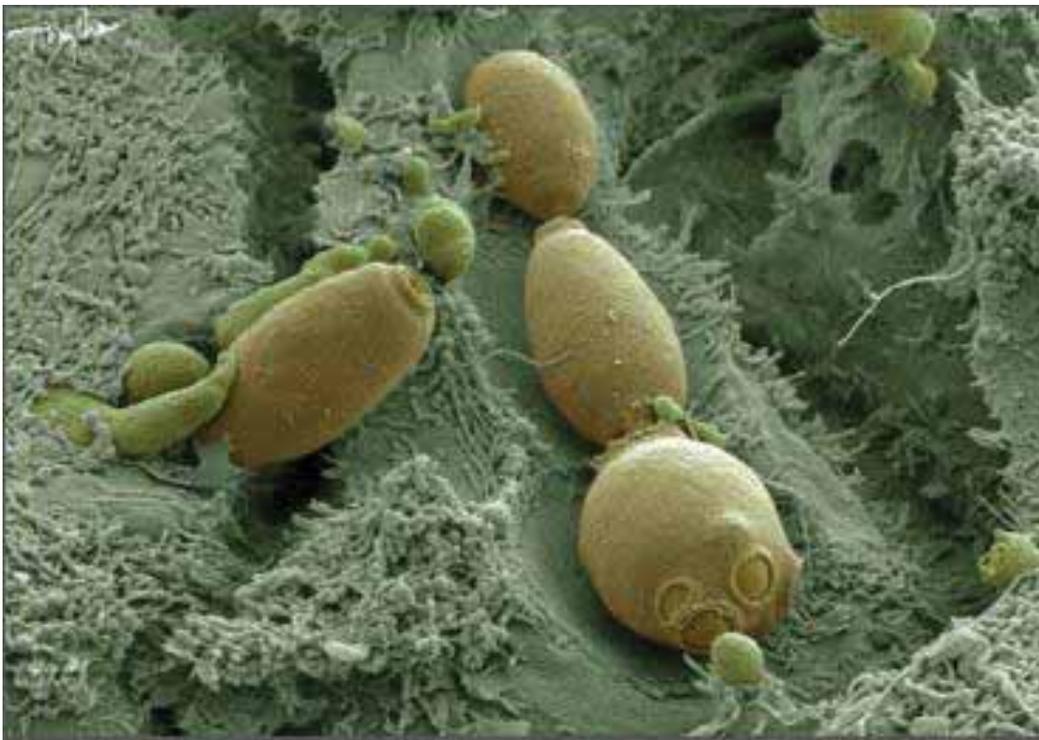


Figura 5. Visión microscópica de *Saccharomyces boulardii*  
Fuente: McFarland, (2016)

Esta levadura muestra un crecimiento óptimo a una temperatura inusualmente alta de aproximadamente 37°C y, por ello, se le considera como una “levadura de temperatura extremadamente alta (Figura 6). También Vandenplas y otros, (2002) mencionan que, *Saccharomyces boulardii*, antes denominada *Saccharomyces cerevisiae* Hansen CBS 5926. Es una levadura no patógena, aislada del Itcheé (un cítrico) en Indochina.

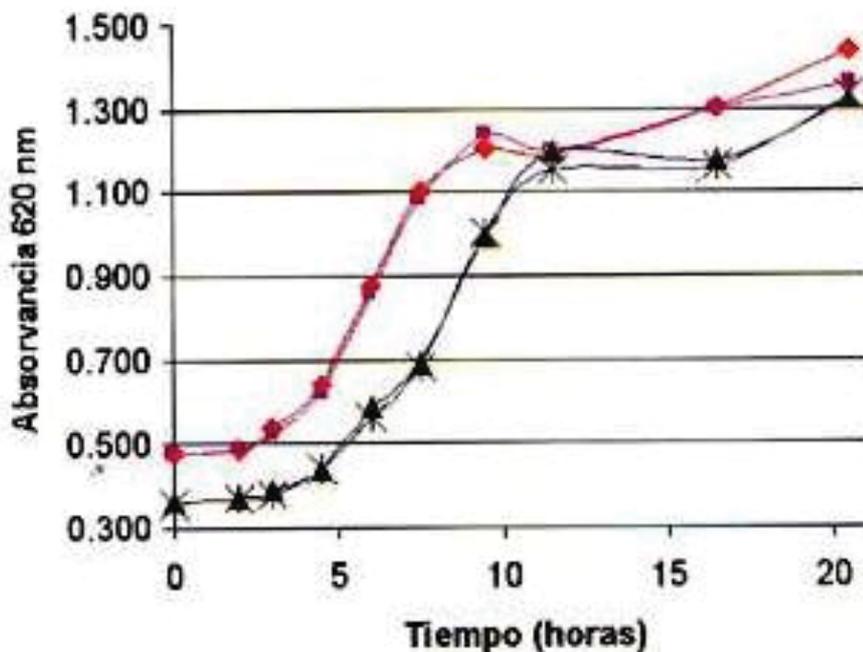


Figura 6. Crecimiento microbiano de *Saccharomyces boulardii*  
Fuente: (Acevedo G. et al., 2004)

Existe comercialmente en una preparación viable liofilizada (deshidratada en congelación); es la única levadura con la que se han hecho estudios doble ciego. La *Saccharomyces boulardii* es diferente de la levadura del pan *Saccharomyces cerevisiae* en varios parámetros taxonómicos, metabólicos y moleculares; resiste la acción del ácido gástrico y la bilis y se encuentra viva en todo el sistema digestivo, cuando se administra diariamente en forma liofilizada; dos a cinco días después, no se la detecta en las heces. (The Kalsner Center foro, citado por Pietri 2011).

#### 2.2.4.3. Forma y farmacocinética

En la forma liofilizada, *Saccharomyces boulardii* es la sustancia activa de un producto medicinal comercializado en casi 100 países de todo el mundo, con diferentes nombres de marca, presentaciones y concentraciones de dosis; generalmente se presentan en cápsulas de 50 mg. *Saccharomyces boulardii* liofilizada se obtiene a través del secado por

congelación en presencia de lactosa. Este método permite que la levadura se mantenga viva y estable. Un estudio de las propiedades fármaco dinámicas de *Saccharomyces boulardii* demostró que, en la mayoría de casos, dichas propiedades están asociadas a su capacidad de reactivación. Al igual que todas las levaduras, *Saccharomyces boulardii* es genéticamente resistente a los antibióticos antimicrobianos; para casi todos los antibióticos estudiados. (Bergogne y bérézin, citado por Buts 2005).

#### 2.2.4.4. *Lactobacillus lactis*

*Lactobacillus lactis* es una bacteria ácido – láctica que se ha estudiado por presentar características que se adecuan a las de un probiótico, estudios han demostrado que puede inhibir el crecimiento de otros microorganismos; una de sus principales características las cuales le confiere la capacidad antibacteriana en la producción de nisina (Figura 7).

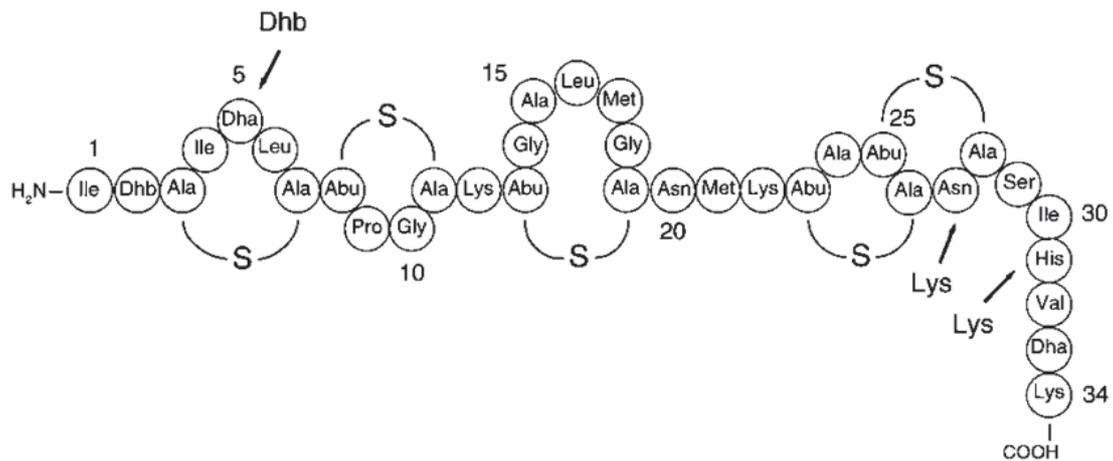


Figura 7. Estructura de la nisina  
Fuente: Rollema et al., (1995)

Se encuentra en gran variedad de ambientes, desde el tracto gastrointestinal hasta productos fermentados como el yogurt, de igual manera, reduce el pH del medio y produce ácidos orgánicos que también afectan a microorganismos no deseados (Figura 8)

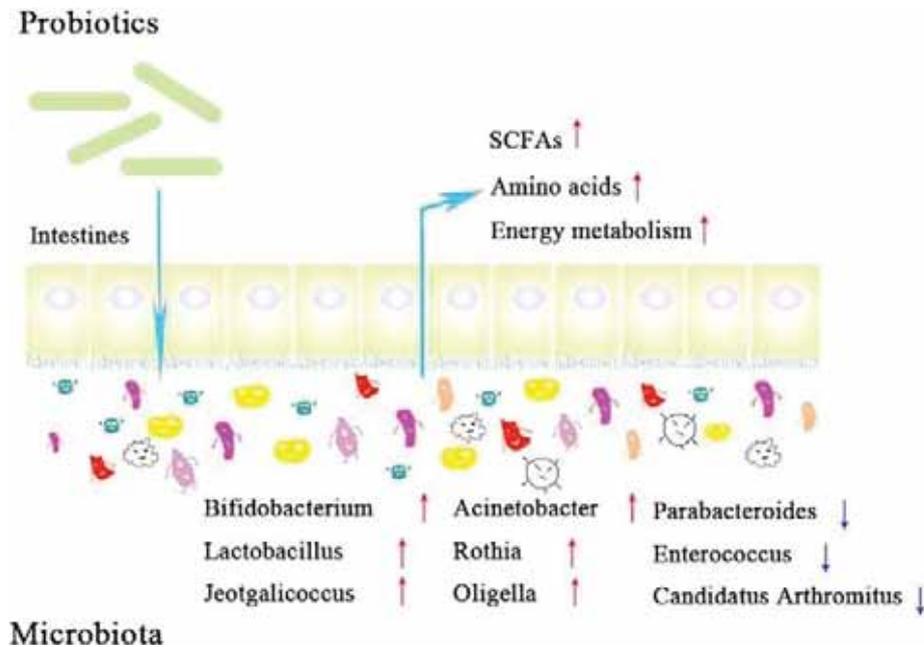


Figura 8. Acción de *Lactobacillus Lactis* en el intestino  
Fuente: Wang et al., (2018)

### 2.2.5. Crecimiento bacteriano

El crecimiento es el incremento ordenado de todos los componentes de un microorganismo. Por tanto, el aumento de tamaño que resulta cuando una célula capta agua o deposita lípidos o polisacáridos no es un crecimiento verdadero. La multiplicación celular es la consecuencia del crecimiento; en microorganismos unicelulares la multiplicación aumenta la cantidad de individuos y da a lugar a una población o cultivo.

#### 2.2.5.1. Crecimiento microbiano en medio líquido

Si la bacteria crece en un medio líquido, en la mayoría de los casos las células que se producen en cada división continúan su vida independientemente formándose una suspensión de células libres. (Puerta, C. J., & Ureña, C. P. 2005).

Esta puede ser evidenciada en un medio de cultivo que proporcione todos los requerimientos nutricionales para el microorganismo, además de poseer las condiciones óptimas de temperatura, pH, aireación y agitación (Buitrago y Escobar, 2009 p. 75). A su

vez esta es expresada en función a crecimiento logarítmico en función al tiempo (Figura 9).

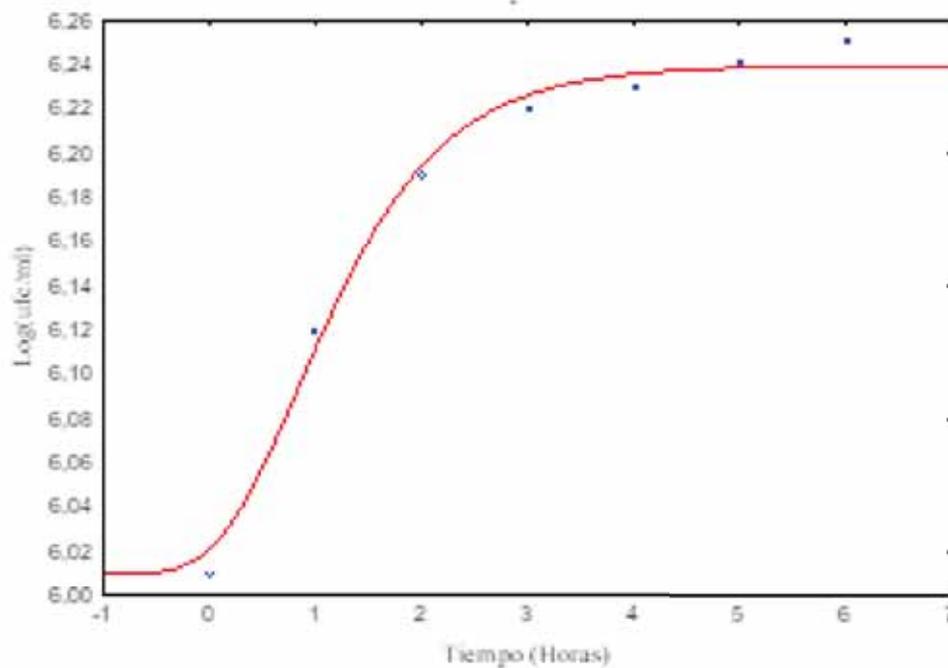


Figura 9. Curva de crecimiento de una levadura  
Fuente: Rodríguez & Chambi, (2019)

#### 2.2.5.2. Fase de adaptación

Esta fase es generalmente considerada como el periodo que precede al estado de crecimiento exponencial, que en la mayoría casos presenta una duración corta y a la vez la fase de adaptación se considera en 2 partes. Buitrago y Escobar, (2009).

#### 2.2.5.3. Fase de crecimiento exponencial

Las células se incrementan exponencialmente, debido a que una de las células se encuentra en un estado interno de división celular. Buitrago y Escobar, (2009).

#### 2.2.5.4. Fase estacionaria

En este periodo el porcentaje de crecimiento comienza a decrecer y eventualmente el número de células comienza a ser constante. El número de células que mueren es

comparativamente igual, al número de células que se forman, habiendo un estado de equilibrio (Cook, por Buitrago y Escobar, 2009).

#### **2.2.5.5.Fase de decaimiento**

Generalmente, el número de células mueren exceden el número de las células que se produce y el cultivo experimenta una fase de declive (Cook, citados por Buitrago y Escobar 2009).

#### **2.2.5.6.Crecimiento microbiano en medio solido**

Las fases, parámetros y cinética de crecimiento discutidas para el caso de los cultivos líquidos se presentan también en cultivos sólidos. La cinética de crecimiento, en este caso, se puede estudiar siguiendo la evolución del número de células viables por unidad de superficie o por unidad de masa.

Cuando una célula aislada e inmóvil comienza a crecer sobre un sustrato sólido, el resultado del crecimiento al cabo del tiempo es una colonia, por consiguiente, se denomina unidades formadoras de colonia (UFC) a una célula bacteriana viva y aislada que se encuentra en condiciones de sustrato y ambientales adecuadas da lugar a la producción de una colonia en un breve lapso de tiempo. Si en número inicial de bacterias por unidad de superficie de las colonias da lugar a lo que se llama un césped cuando se realizan los cultivos en placas de laboratorios.

En el caso de microorganismos móviles (deslizantes) o en el de los hongos filamentosos que tienen un crecimiento trófico no se producen colonias aisladas sino formaciones más difusas o miceliales. (Puerta & Ureña, 2005)

#### **2.2.5.7.Modelos predictivos del crecimiento microbiano**

Según McMeekiny y otros (1993), La aplicación de modelos matemáticos para describir el crecimiento de los microorganismos en alimentos ha tenido un notable

desarrollo -en los últimos años. Los principales factores que han contribuido a incrementar el interés por los modelos predictivos en microbiología de alimentos han sido dos. El primero de ellos ha sido el marcado aumento de las intoxicaciones provocadas por alimentos durante los años 80, lo que llevó a un mayor conocimiento, por parte de la opinión pública, de los requerimientos para una alimentación sana y segura. El segundo ha sido la comprensión de que los métodos microbiológicos tradicionales y muchos métodos "rápidos", que se utilizaban para determinar la calidad y la seguridad de los alimentos, estaban limitados por las necesidades de tiempo para obtener resultados y tenían muy poco valor predictivo (Garza, 1996).

Los modelos microbianos constituyen valiosas herramientas, en la industria alimentaria, para predecir el crecimiento o supervivencia de los microorganismos. Los modelos pueden, de esta forma, aportar información muy útil para tomar decisiones acerca de la higiene y la vida útil de un producto, pudiéndose estimar los riesgos potenciales debidos al crecimiento de patógenos en un alimento tras un período de almacenamiento en determinadas condiciones, o establecer una fecha de caducidad para un producto mediante la estimación del tiempo necesario para alcanzar un nivel especificado de alteración del producto o de población microbiana. (Garza, 1996).

#### **2.2.5.7.1. Modelos primarios**

Los modelos primarios se ocupan de la descripción de los cambios del número microbiano en función del tiempo (crecimiento, supervivencia, inactivación). Cualitativamente pueden incluir unidades formadoras de colonias (ufc), biomasa, medidas de absorbancia, además de niveles de substratos o de productos metabólicos producidos (Geeraerd y col, 2004).

Muchos de los modelos primarios desarrollados hasta ahora son modelos deterministas de población. En estos modelos, la evolución del número total de células de una población

es descrita a través de un sencillo conjunto de parámetros (máxima densidad poblacional, velocidad de crecimiento específica, fase de latencia) (Sswinnen y col, 2004).

Entre los modelos de existencia de poblaciones se pueden citar el modelo de Buchanan y col (1997), un modelo lineal trifásico que describe la curva clásica de crecimiento en tres partes: fase de latencia, fase exponencial y fase estacionaria.

### 2.2.5.7.1.1. Modelo de Gompertz

El modelo de Gompertz es una función exponencial doble, que describe una curva sigmoidea asimétrica representada por la ecuación 1. La base de este modelo es que, debido a la limitación de espacio y/o nutrientes, así como la producción de metabolitos primarios y secundarios hasta un máximo y luego disminuiría, basado en la cantidad de sustrato de esta manera, la velocidad máxima de crecimiento es determinada en el punto de inflexión en la curva (Sancho, 2015)

$$N = N_0 + C * \exp(-\exp(-B * (t - M))) \quad (1)$$

Donde: N es el número de microorganismos a un tiempo t,  $N_0 > 0$  es el número de microorganismos en momento inicial, el parámetro  $C > 0$  es tasa específica de crecimiento, el parámetro B es velocidad máxima específica y M es el tiempo requerido para hallar B (Coll et al., 2001). A partir de estos parámetros, la velocidad de crecimiento ( $\mu_{max}$ ) ( $h^{-1}$ ) (Ecuación 2) y la duración de la fase lag ( $\lambda$ ) (h) (Ecuación 3) pueden ser calculados ( $e=2,7182$ ).

$$\mu = \frac{A * B}{e} \quad (2)$$

$$\lambda = M - \frac{1}{B} \quad (3)$$

El modelo de Gompertz fue reparametrizado por Zwietering et al., (1991) (Ecuación 4), con el objetivo de obtener una representación directa de los parámetros de interés biológico  $\lambda$  y  $\mu$ , resultando el modelo de Gompertz modificado. Por ser una reparametrización, los dos modelos presentan ajustes similares.

$$\text{Log}(N) = N_o + A * \exp\left\{-\exp\left[\frac{u * e}{A}(\lambda - t) + 1\right]\right\} \quad (4)$$

Este modelo es bastante utilizado para describir el comportamiento microbiano en diferentes medios de cultivo y alimentos.

#### 2.2.5.7.1.2. Modelo Logístico

La diferencia del modelo logístico y el modelo de Gompertz es que, en el primero la curva logística es descrita por una curva sigmoide simétrica; este modelo es representado por la ecuación 5.

$$\log(N) = N_o + \frac{A}{\{1 + \exp[-B * (t - M)]\}} \quad (5)$$

Donde los parámetros del modelo representan los mismos significados de la ecuación 1. Siendo el parámetro  $\mu$  dado por la ecuación 6 y el parámetro  $\lambda$  por la ecuación 7.

$$\mu = \frac{A * B}{4} \quad (6)$$

$$\lambda = \frac{M - 2}{B} \quad (7)$$

La aplicación del modelo logístico es más limitada cuando comparada por el modelo de Gompertz. Este modelo ha sido utilizado, por ejemplo, en el ajuste de las curvas de crecimiento de microorganismos deteriorantes en peces, además de haber sido utilizado en la evaluación de la significancia del tamaño del inóculo en la fase de latencia o adaptación.

#### **2.2.5.7.2. Modelos secundarios**

Los modelos secundarios caracterizan los parámetros que pueden aparecer en los modelos primarios en función de las condiciones del medio (temperatura, pH, actividad de agua, etc.). Permiten considerar como dos o más factores interactúan sobre el crecimiento microbiano.

En el pasado los modelos secundarios para el tiempo de latencia solamente incorporaban el efecto del ambiente de incubación. Hoy en día han surgido muchos más modelos que incluyen otros factores relevantes como las condiciones de pre incubación. Estos modelos podríamos agruparlos en dos secciones:

- Modelos que calculan la duración de la fase de latencia en función de las condiciones de incubación.
- Modelos que calculan la duración de la fase de latencia en función de las condiciones de pre-incubación y de incubación. (Buchanan & Col, 1997)

#### **2.2.5.7.3. Modelos terciarios**

Los modelos terciarios pueden tener varias formas, comenzando por combinar los dos primeros niveles de modelos basados en experimentos de laboratorios ( por ejemplo, el “Pathogen Modeling Program”, creado y puesto a disposición de la comunidad científica gratuitamente por la USDA); versiones más extendida que incluyen la posibilidad de importar una historia de temperatura para predecir la vida útil restante con respecto a un organismo deteriorador específico, como es el caso del “Sea food Spoilage predictor” (Dalgaard y col., 2002); o llegando hasta la incorporación de modelos predictivos en una red de evaluación de riesgos microbiológicos, como por ejemplo, el SERA (“*Salmonella Enteritidis Risk Assessment*”) del USDA (Geeraerd & Col., 2004).

## **2.2.5.8. Diseños factoriales**

### **2.2.5.8.1. Conceptos básicos**

El objetivo de un diseño factorial es estudiar el efecto de varios factores sobre una o varias variables de respuestas, cuando se tiene el mismo interés sobre todos los factores. Por ejemplo, uno de los objetivos particulares más importantes que en ocasiones tiene un diseño factorial es determinar una combinación de niveles de los factores en la que el desempeño del proceso sea mejor (Walpole et al., 2012).

### **2.2.5.8.2. Factores**

Estas pueden ser de tipo cualitativo (maquinas, tipo de material, operador, la presencia o ausencia de una operación previa, etc.), o de tipo cuantitativo (temperatura, humedad, velocidad, presión, etc.). Para estudiar la manera en que influye cada factor sobre la variable de respuesta es necesario elegir al menos dos niveles de prueba para cada uno de ellos. Con el diseño factorial completo se corren aleatoriamente todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores a investigar.

### **2.2.5.8.3. Arreglo factorial**

Así la matriz de diseño o arreglo factorial es el conjunto de puntos experimentales o tratamiento que puedan formarse considerando todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores. Por ejemplo, con  $k = 2$  factores, ambos con dos niveles, se forma el diseño factorial  $2 \times 2 = 2^2$  (Tabla 4), que consiste en cuatro combinaciones o puntos experimentales.

Tabla 4

*Diseño factorial 2<sup>2</sup>*

<b>A: Levadura</b>	<b>B: Temperatura</b>	<b>Y: Rendimiento</b>
A <sub>1</sub> = 1 (-1)	B <sub>1</sub> = 22 (-1)	28
A <sub>2</sub> = 2 (1)	B <sub>1</sub> = 22 (-1)	41
A <sub>1</sub> = 1 (-1)	B <sub>2</sub> = 30 (-1)	63
A <sub>2</sub> = 2 (1)	B <sub>2</sub> = 30 (-1)	45

Fuente: Walpole et al., (2012).

#### **2.2.5.8.4. Efecto principal y efecto de interacción**

El efecto de un factor se define como el cambio observado en la variable de respuesta debido a un cambio de nivel de tal factor. En particular, los efectos principales son los cambios de medida de la variable de respuesta que se deben a la acción individual de cada factor. En términos matemáticos, el efecto

En particular, los efectos principales son los cambios en la media de la variable de respuesta que se deben a la acción individual de cada factor. En términos matemáticos, el efecto principal de un factor con dos niveles es la diferencia entre la respuesta media observada cuando tal factor estuvo en su primer nivel, y la respuesta media observada cuando el factor estuvo en su segundo nivel.

### **2.3. Antecedentes**

#### **2.3.1. Bacterias presentes en los prefermentos**

Flores & Chávez (2006) en su estudio destacó la importancia del uso de prefermentos ya que en su experiencia demostró que las harinas pueden poseer bacterias como el *L. brevis*, *L. fermentum*, *S. cerevisiae* haciendo que las masas tengan las características de prefermentos.

En concordancia Li et al. (2016) destacan en su estudio de caracterización de prefermentos que estos contienen ciertas cantidades de microorganismos que aportan características de iniciadores de pan como *Saccharomycopsis fibuligera*, *Torulasporea delbrueckii*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Según Montanari et al. (2014) en su estudio de caracterización de masas madres en pan italiano tipo pandoro encontró bacterias que se encuentran asociadas a la fermentación entre las cuales se destacan *Candida humilis*, *Kazachstania exigua*, asimismo, se demostró que durante el proceso de fermentación se desarrollaron metabolitos como maltosa por *Lactobacillus sanfranciscensis*.

### **2.3.2. Adición de bacterias en masas**

Numerosos estudios realizados destacan el uso de bacterias en masas de harina de trigo entre ellos se tiene el uso de *Lactobacillus plantarum* en la reducción de gluten de trigo haciendo que las masas presenten bajo contenido de  $a$  – Gliadina alimento adecuado para celíacos (Galindo et al., 2016) Asimismo se tiene la adición de *Lactobacillus sp.*LBM9 *Lactobacillus brevis* LBM1, las cuales generan masas acidas que disminuyen el porcentaje proteico, aumentan el volumen final y retrasan el endurecimiento del pan (Araneda et al., 2014)

## CAPITULO III

### 3. HIPÓTESIS Y VARIABLES

#### 3.1.Hipótesis general

- El uso de prefermentos y bacterias ácido – lácticas en la elaboración de pan de trigo mejorará su calidad nutricional.

#### 3.2.Hipótesis específicas

- La concentración de prefermento y bacterias ácido-Lácticas afecta el proceso de fermentación
- El uso prefermento y bacterias ácido-Lácticas mejorara las características físico-químicas, nutricionales y sensoriales del pan.

#### 3.3.Identificación de variables e indicadores

El presente estudio contemplo dos variables independientes como son el tipo de prefermento y la bacteria láctica; y en caso de las variables dependientes se medirá el pH, la acidez, proteína, volumen, porosidad. (Tabla 5) con niveles de medición de intervalo.

Tabla 5

Variables de estudio

Variables	Descripción
Independientes	Prefermento:
	<ul style="list-style-type: none"><li>• Masa con harina de Trigo</li><li>• Masa con harina de Centeno</li></ul>
	Microorganismos: <ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Saccharomyces boulardii</i></li><li>• <i>Lactobacillus lactis</i></li></ul>
Dependientes	Fisicoquímicas:
	<ul style="list-style-type: none"><li>• pH</li><li>• Acidez</li><li>• Proteína</li><li>• Volumen</li><li>• Porosidad</li></ul>
	Sensoriales:

- 
- Olor
  - Color
  - Sabor
  - Textura
  - Aceptación general
- 

### **3.4.Operacionalización de variables**

Se trabajo con dos variables independientes las cuales son detalladas a continuación

#### **3.4.1. Variable prefermento**

Es el tipo de iniciador de la fermentación en el pan puede ser líquida o sólida y puede proporcionar un buen desarrollo microbiano y generar mejoras en la composición del pan (proteínas) y propiedades organolépticas (olor, color, sabor, textura).

#### **3.4.2. Variable Bacterias Lácticas**

El tipo de bacteria láctica aplicada proporciona a la masa características no convencionales ya que estas no son nativas en la fermentación de las masas y estas serán medidas por el pH, la acidez y el número de colonias.

## CAPITULO IV

### 4. METODOLOGÍA

#### 4.1.Ámbito de Estudio

La presente tesis fue desarrollada en el centro de investigación de tecnología de alimentos (CITAL) de la Universidad Peruana Unión campus Juliaca a 3820 msnm.

#### 4.2.Tipo de Investigación.

La presente tesis tiene un diseño experimental ya que trata de comprobar o refutar una hipótesis en forma matemática y cuyos resultados van a enriquecer el conocimiento teórico científico y práctico determinando el efecto de la aplicación de las masas madres y bacterias lácticas en la elaboración del pan.

#### 4.3.Materia Prima

##### 4.3.1. Prefermento

Los prefermentos fueron elaborados con harina de trigo integral sin refinación la cual fue obtenida mediante molienda en un molino de bolas, para luego pasar por un tamizador de malla N°150, asimismo, la harina de centeno fue obtenida de la misma manera que la harina de trigo, sin embargo, el centeno fue obtenido en el mercado de la localidad de Pomata.

##### 4.3.2. Bacterias Lácticas

Las cepas bacterianas usados en los experimentos fueron: *Saccharomyces boulardii*, la cual es una cepa liofilizada de tipo Hansen CBS 5923 de marca Merck de procedencia mexicana; y *Lactobacillus lactis*, cepa liofilizada proveniente de cultivo lácticos destinados en la elaboración de yogurt

### 4.3.3. Formulación del pan

Se formularon los panes con diferentes prefermentos y cepas estableciendo los siguientes tratamientos:

Tabla 6

*Formulaciones de panes con adición de prefermentos*

Tratamientos	Ingredientes					
	Harina de trigo	Prefermento	Azúcar	sal	Levadura	Grasa
<b>Patrón</b>	1000	-	100	15	20	100
<b>T<sub>TSb</sub></b>	1000	100	100	15	-	100
<b>T<sub>CSb</sub></b>	1000	100	100	15	-	100
<b>T<sub>TLI</sub></b>	1000	100	100	15	-	100
<b>T<sub>CLI</sub></b>	1000	100	100	15	-	100

### 4.4. Materiales y Equipos

- Tubos de ensayo de 5, 10 y 20 mL.
- Matraces, Erlenmeyer
- Placas Petri
- Pipetas de 5 y 10 ml
- Probetas de 50, 100 y 500 ml
- Capsulas de porcelana
- Estufa marca Kertlab MODELO : 9140A
- Balanza analítica marca Pioner
- Espectrofotómetro Genesys Thermo Scientific Modelo 10S
- Potenciómetro SI Analytics Lab 870
- Autoclave Sturdy Modelo SA – 232X
- Mufla Nabertherm Modelo LE020K1RN

#### 4.5.Reactivos

- Hidróxido de sodio 0.1 N
- Ácido Sulfúrico 2N
- Ácido Clorhídrico 0.1 N
- Fenolftaleína al 1%
- Ácido bórico al 4%
- Fenol

#### 4.6.Elaboración de los prefermentos

La elaboración de masas madres (prefermentos) fueron elaboradas como se muestra en la Figura 10, para tal efecto, se realizó una dosificación de agua – harina (1:1), y así de este modo dejarlas en reposo a condiciones de medio ambiente por 24 horas, luego se procedió realizar el primer refrescamiento mediante la adición de agua - harina (1:1), asimismo, en esta etapa se añadió las cepas de estudio (*Saccharomyces boulardii* y *Lactobacillus lactis*), para así dejar la mezcla nuevamente en reposo bajos las condiciones ambientales ya mencionadas, finalmente se realizaron dos refrescamientos sin agregar las cepas y así de esta forma se obtuvo masas madre con puntos de activación estables.

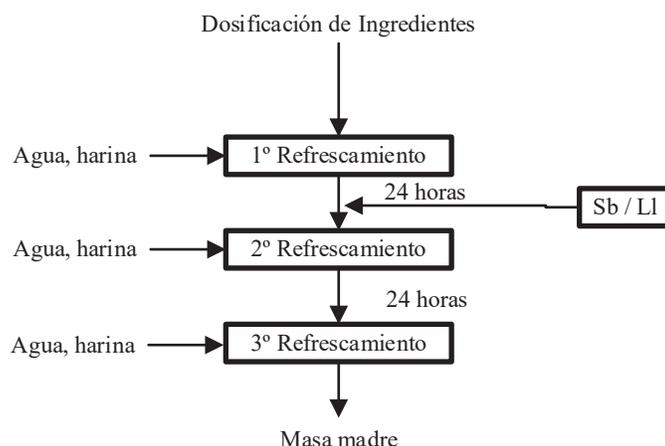


Figura 10. Flujograma de elaboración de masa madre  
Adaptado de Montanari et al., (2014)

La tabla 7, muestra las mezclas harina – cepa dando un total de 4 prefermentos para la elaboración de panes, asimismo, esta contiene la codificación de las mismas.

Tabla 7

*Elaboración de prefermentos para los tratamientos*

Prefermentos		Variables	
#	Codificación	Tipo de Harina	Cepa
1	T <sub>TSb</sub>	Harina de trigo	<i>Saccharomyces boulardii</i>
2	T <sub>CSb</sub>	Harina de centeno	<i>Saccharomyces boulardii</i>
3	T <sub>TLI</sub>	Harina de trigo	<i>Lactobacillus lactis</i>
4	T <sub>CLI</sub>	Harina de centeno	<i>Lactobacillus lactis</i>

#### 4.7. Elaboración del pan de trigo

Para la elaboración del pan de trigo se siguió el procedimiento mostrado en la figura 11, en la cual los ingredientes fueron pesados en una balanza OHAUS según la formulación antes mencionada, luego se procedió a agregar el prefermento según corresponda a los tratamientos realizados, para luego así, realizar el mezclado de los ingredientes en una batidora planetaria (5 min a velocidad lenta y 10 min a velocidad rápida) hasta conseguir la formación de la red de gluten, luego se procedió a realizar el boleado con piezas de masa de 50g y colocadas en

bandejas engrasadas, enseguida estas fueron llevadas a fermentación en una cámara húmeda hasta el volumen ideal y finalmente ser horneado en un horno rotativo a gas a 210 °C por 15 min.

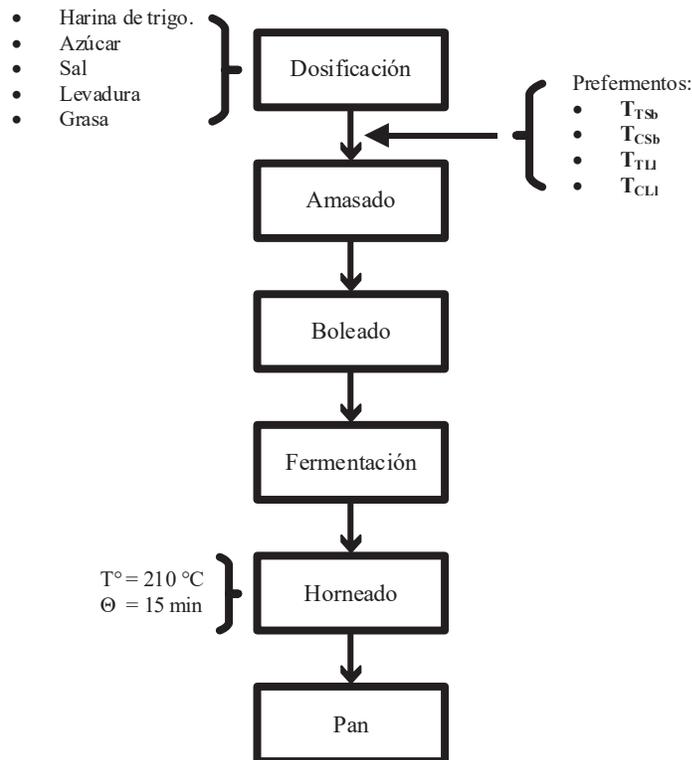


Figura 11. Flujograma de elaboración de pan de trigo

#### 4.8. Determinación de las propiedades físicas

##### 4.8.1. Volumen

Durante el proceso de fermentación se realizó el control de hinchamiento en un baño maría MS – 11 con agitación, para la cual se colocó los tratamientos en probetas de 250 ml en un peso de 20 g a una temperatura de 37 °C cada medición se realizó en intervalos de una hora hasta completar 4 horas, asimismo, para el producto se pasó a enfriar los panes a temperatura ambiente durante tres horas, estos fueron sumergidos en un volumen

previamente aforado de semillas de cañihua, se midió el volumen final y el volumen inicial y se evaluó la diferencia alcanzada en el pan. (Restrepo et al., 2006)

#### **4.8.2. pH**

Para la medición de pH, se diluyeron las muestras en agua destilada luego se procedió a sumergir el electrodo ya realizar las lecturas (AOAC 945.45).

#### **4.8.3. Acidez Titulable**

Se determinó el índice de acidez por la metodología de la AACC 02 – 31.01(2000), midiendo la cantidad requerida de NaOH (ml) para neutralizar los ácidos presentes, los datos fueron expresados en % de ácido sulfúrico.

#### **4.8.4. Porosidad**

Se realizaron cortes transversales a las muestras y estas fueron colocados en hojas milimetradas en una cabina oscura sin presencia de luz externa, iluminada con luz LED (36 watts) el cual proporciona uniformidad de iluminación en la muestra, con un sostenedor para la cámara, la base de color negro con un elevador hidráulico de laboratorio de manera que centre bien la distancia entre la muestra y la cámara (figura 12)

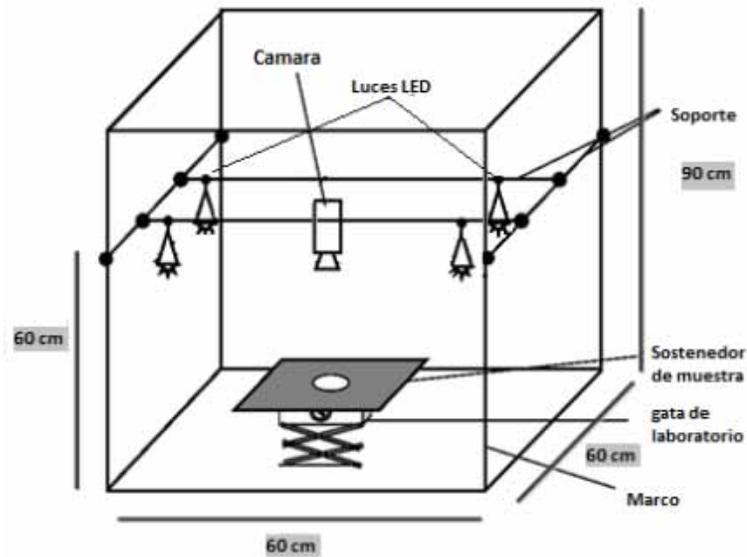


Figura 12. Sistema de Procesamiento de Imágenes  
Fuente: Zabala (2019)

Una vez obtenidas las imágenes estas fueron procesadas con el software ImageJ, el cual realiza un contraste entre la fase de los poros y parte sólida de la imagen, para la cual se convirtió la imagen en escala de grises, los valores de píxeles pasaron a ser convertidos en unidades de distancia.

#### 4.9. Determinación de la composición Proximal del pan

##### 4.9.1. Humedad

Se determinó la humedad mediante el método AOAC 14004, se tuvo una muestra de 2 g, Se secó la muestra en su respectivo crisol en el horno a  $105 \pm 3^\circ\text{C}$  hasta llegar a una masa constante (aprox. 5 horas), enfriamos en una desecadora hasta que alcance la temperatura ambiente para luego ser pesados, el porcentaje de humedad se expresa en la Ecuación 8:

$$\% \text{ de Humedad} = \frac{\text{Pérdida de Peso}}{\text{Peso}} \times 100\% \quad (8)$$

#### 4.9.2. Ceniza

Para la determinación de cenizas se utilizó el método de calcinación en crisoles de porcelana a una temperatura de  $550 \pm 25$  °C, hasta obtener cenizas blancas o grisáceas, están será expresada de la siguiente manera en la Ecuación 9:

$$\% \text{ Ceniza} = \frac{C_3 - C_1}{C_2 - C_1} \times 100\% \quad (9)$$

Donde:

C<sub>1</sub>: Peso del crisol vacío en gramos

C<sub>2</sub>: Peso del crisol con la muestra en gramos

C<sub>3</sub>: Peso del crisol con las cenizas en gramos

#### 4.9.3. Proteína

Para determinar proteínas se aplicó el método Kjeldahl que estuvo compuesto básicamente en tres etapas: la primera que consistió en la digestión o desmineralización con sulfato de cobre y sulfato de sodio químicamente puros, la segunda en la destilación en la cual el nitrógeno liberado se recogió sobre una disolución de ácido bórico al 4%, para finalmente realizar la valoración con ácido clorhídrico a 0.1 N.

#### 4.9.4. Grasa

Para determinar el porcentaje de grasa de los tratamientos se aplicó el método Soxhlet, que consto en la extracción del compuesto etéreo con disolventes orgánicos (Hexano), es así que de esta manera se registró el peso de la muestra seca y también del balón al inicio y al final del procedimiento para así aplicar la ecuación 10.

$$\% \text{grasa} = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100\% \quad (10)$$

Donde:

m: Peso de la muestra

m<sub>1</sub>: Peso del balón vacío

m<sub>2</sub>: Peso del matraz con grasa

#### 4.9.5. Fibra

Para determinar la fibra el método que se aplicara será la digestión ácida y alcalina de la muestra obteniéndose un residuo de fibra cruda y sales que con calcinación posterior se determinara la fibra cruda, expresada de la siguiente manera:

$$\% \text{Fibra Cruda} = \frac{(P_s - P_p) - (P_c - P_{cp})}{M} \times 100 \quad (11)$$

Donde:

P<sub>s</sub> = Peso en gramos del residuo seco a 130 °C

P<sub>p</sub> = Peso en gramos del papel filtro

P<sub>cp</sub> = Peso en gramos de las cenizas del papel

M = Peso de la muestra en gramos

P<sub>c</sub> = Peso en gramos de las cenizas

#### 4.9.6. Evaluación Sensorial

Se realizaron pruebas escalares descriptivas en los panes cuantificando las diferencias sensoriales de cada uno de los tratamientos, se diseñó un gráfico radial típico para comparar

el efecto del uso de los microorganismos en los panes, las muestras fueron presentadas en forma aleatoria y simultánea a 30 jueces semientrenados, los parámetros evaluados fueron: olor, color, sabor, textura y apariencia general.

#### 4.9.7. Determinación de la curva de crecimiento

Para las lecturas del incremento de biomasa se utilizó un microscopio monocular LW SCIENTIFIC y una cámara Neubauer de 0.100 a 0.00025 mm<sup>2</sup> expresando los resultados en unidades formadora de colonias por mililitro (ufc/ml) convertidos a logaritmos de base 10 y modelados en ecuaciones presentados en la Tabla 8; aplicando un análisis de regresión no lineal en el paquete estadístico Statsoft Statistica v. 13.0.

La comparación de los diferentes modelos ajustados, se realizó tomando la factibilidad de los mismos para alcanzar el ajuste, determinando los parámetros de crecimiento correspondientes a cada modelo matemático (Castro et al., 2008).

Tabla 8

*Modelos de cinética de crecimiento microbiano*

<b>Modelo</b>	<b>Expresión</b>
<b>Gompertz</b>	$N = N_o + C * \exp(-\exp(-B * (t - M)))$
<b>Logístico</b>	$\log(N) = N_o + \frac{A}{\{1 + \exp[-B * (t - M)]\}}$

Donde N es el número de microorganismos a un tiempo t, N<sub>o</sub> > 0 es el número de microorganismos en momento inicial, el parámetro C > 0 es tasa específica de crecimiento, el parámetro B es velocidad máxima específica y M es el tiempo requerido para hallar B (Coll et al., 2001)

## CAPÍTULO V

### 5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 5.1. Propiedades físicas

##### 5.1.1. Análisis de volumen, pH y acidez en las masas

En la figura 13 se puede apreciar el comportamiento del volumen en el hinchamiento de las masas, en el cual, la mezcla de harina de trigo con *Saccharomyces boulardii* presentaron un mayor incremento en comparación a las demás, seguido de la mezcla de harina de centeno con *Saccharomyces boulardii*; asimismo; las mezclas con *Lactobacillus lactis* con las harinas muestran un incremento en el volumen y que, sin embargo, a partir de la tercera hora tiende a decrecer en la mezcla con el trigo y a la segunda hora con la de centeno.

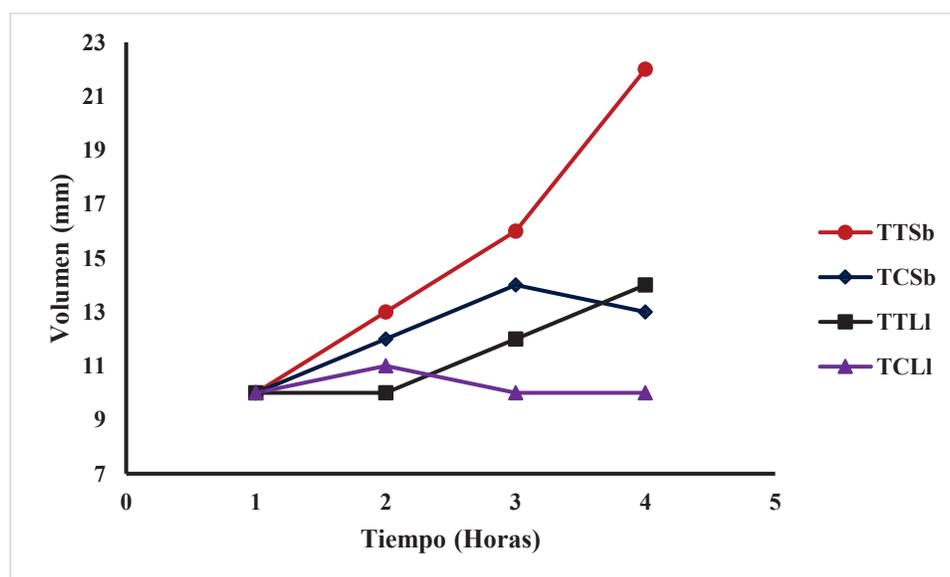


Figura 13. Incremento de volumen en la fermentación  
T<sub>TSb</sub>: Trigo con *Saccharomyces boulardii*; T<sub>CSb</sub>: Centeno con *Saccharomyces boulardii* T<sub>TLI</sub>: Trigo con *Lactobacillus lactis*; T<sub>CLI</sub>: Centeno con *Lactobacillus lactis*

León et al. (2006), en su estudio con bacterias ácido lácticas silvestres demostró que estas, pueden influir en el volumen de las masas puesto que estas consumen el sustrato que se encuentra en la harinas para así generar metabolitos en la cual se resalta la formación de

CO<sub>2</sub> de modo que este forma burbujas dando como resultado incremento en el volumen de las masas; asimismo Siepmann, Sousa, Waszczynskyj, & Spier, (2019) encontraron que, la bacterias lácticas pueden incrementar el volumen de las masas hasta cierto punto luego estas empiezan a desestabilizarse ocasionando leves disminución corroborando lo hallado en el experimento; Según, Fennema (2000), atribuye este fenómeno a la acción bioquímica de los microorganismos, ya que estos consumen los carbohidratos presentes generando una mezcla de fases donde se resalta el estado sólido – gaseoso.

En la tabla 9 se muestra las estadísticas de regresión del ajuste de cada uno de los tratamientos, en ella se puede apreciar que el tratamiento de trigo con SB muestra en mejor ajuste en comparación a los demás, lo mismo ocurre con la pendiente de cada una de las curvas donde el tratamiento de trigo con SB presenta un valor mayor a los demás, por otro lado, también se puede apreciar que esta misma prueba presenta una buena significancia en comparación a los demás.

Tabla 9

*Análisis estadístico de regresión lineal de volumen en la fermentación*

Estadísticas de la regresión	Tratamientos			
	T <sub>TSb</sub>	T <sub>CSb</sub>	T <sub>TLI</sub>	T <sub>CLI</sub>
<b>Coefficiente de correlación múltiple</b>	0.98	0.83	0.94	0.25
<b>Coefficiente de determinación R<sup>2</sup></b>	0,96	0.69	0.89	0.06
<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>	0.94	0.53	0.83	0.00
<b>Desviación estándar</b>	1.16	1.16	0.77	0.59
<b>Pendiente (m)</b>	3.90	1.10	1.40	0.10
<b>Constante (b)</b>	5.50	9.50	8.00	10.50
	Valor p			
<b>Tiempo</b>	0.01	0.16	0.05	0.74
<b>Intercepción</b>	0.06	0.02	0.01	0.00
<b>Durbin Watson</b>	2.23	2.23	2.23	2.90

La figura 14 muestra el comportamiento del pH de cada una de las masas, el valor más elevado fue dado por las mezclas de harina de centeno con ambos microorganismos, en cambio las mezclas con harina de trigo presentaron valores de pH más ácidos en especial.

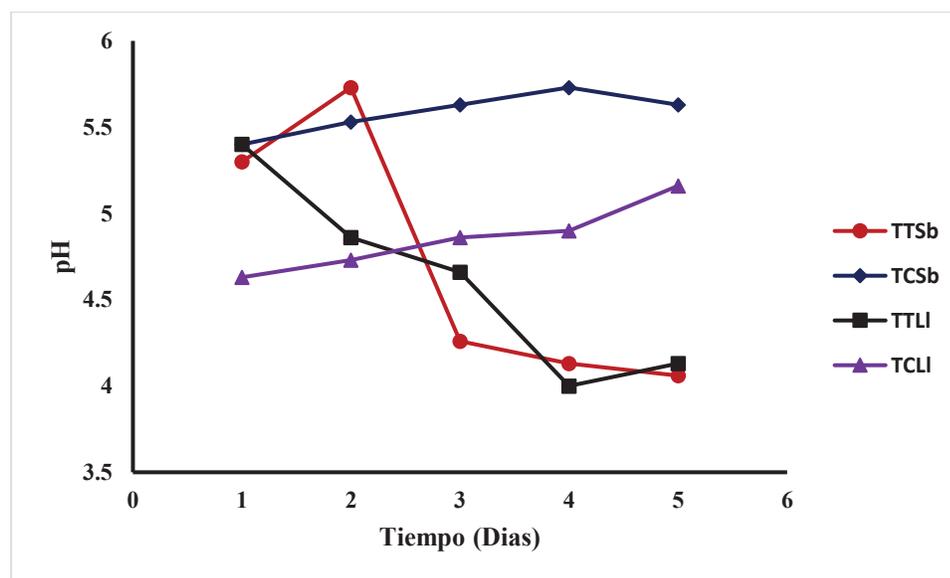


Figura 14. Medición de pH en las masas  
Fuente: Elaboración propia

León et al. (2006), en su estudio mostro valores de pH que oscilan entre 4.66 a 5.58 en la elaboración de masas acidas con bacterias acido lácticas, asimismo Montanari et al., (2014) en el monitoreo de sus masas encontró valores entre 4.49 a 5.88 en dos diferentes temperaturas de estudio; por otro lado en el monitoreo de pH que realizaron Wang, Zhao, & Yuan (2019); encontraron una disminución gradual de pH de masas madres hasta un valor de 3.80 en un tiempo de 9 horas, y manteniéndose estable hasta un tiempo de 18 horas; es asi que, la figura 13 muestra una reducción lenta en comparación a los estudios mencionados, pero que se mantiene estable en un pH aproximado de 4, que según Wang et al. (2019), se debe a la capacidad de taponarse de los microorganismos en la acción bioquímica que se genera en las masas madres.

En la tabla 10 se muestra las estadísticas de regresión del ajuste de cada uno de los tratamientos, en ella se puede apreciar que el tratamiento de centeno con LL muestra el mayor ajuste seguido de trigo con LL, con respecto a las masas compuestas por trigo con ambos microorganismos presentan una pendiente negativa; por otro lado las masas compuestas por centeno presentan una pendiente positiva, asimismo, con respecto al análisis de varianza se aprecia que el tiempo en las mezclas de masas de trigo y centeno con SB no presenta significancia ya que el valor p es mayor a 0.05 para ambos casos; sin embargo las masas con LL presentan significancia con valores menores a 0.05; en el análisis de la interacción tipo de masa – microorganismo todas más muestras mostraron significancia, por otro lado, el estadístico Durbin Watson nos muestra que todos los experimentos están normalmente distribuidos.

Tabla 10

*Análisis estadístico de regresión lineal de pH en la fermentación*

Estadísticas de la regresión	Tratamientos			
	T <sub>TSb</sub>	T <sub>CSb</sub>	T <sub>TLI</sub>	T <sub>CLI</sub>
Coeficiente de correlación múltiple	0.84	0.83	0.94	0.96
Coeficiente de determinación R <sup>2</sup>	0.70	0.69	0.89	0.93
R <sup>2</sup> ajustado	0.60	0.59	0.85	0.91
Desviación estándar	0.47	0.07	0.21	0.06
Pendiente (m)	-0.40	0.06	-0.34	0.12
Constante (b)	5.92	5.38	5.63	4.49
	Valor p			
Tiempo	0.07	0.07	0.01	0.00
Intercepción	0.00	0.00	0.00	0.00
Durbin Watson	2.95	1.80	2.84	2.66

La figura 15 muestra el monitoreo del porcentaje de acidez, en ella se aprecia en el día uno que las masas con *Lactobacillus lactis* son ligeramente superiores a las que contienen *Saccharomyces boulardii*, en el segundo día se puede apreciar que las masas con *Saccharomyces boulardii* son superiores, en el tercer día la masa compuesta por trigo y *Lactobacillus lactis* es superior a los demás, los valores más altos se presentaron en el cuarto día, por las mezclas con *Saccharomyces boulardii* con ambos tipos de harina y finalmente en el quinto día la masas con trigo y *Lactobacillus lactis* presento en mayor valor.

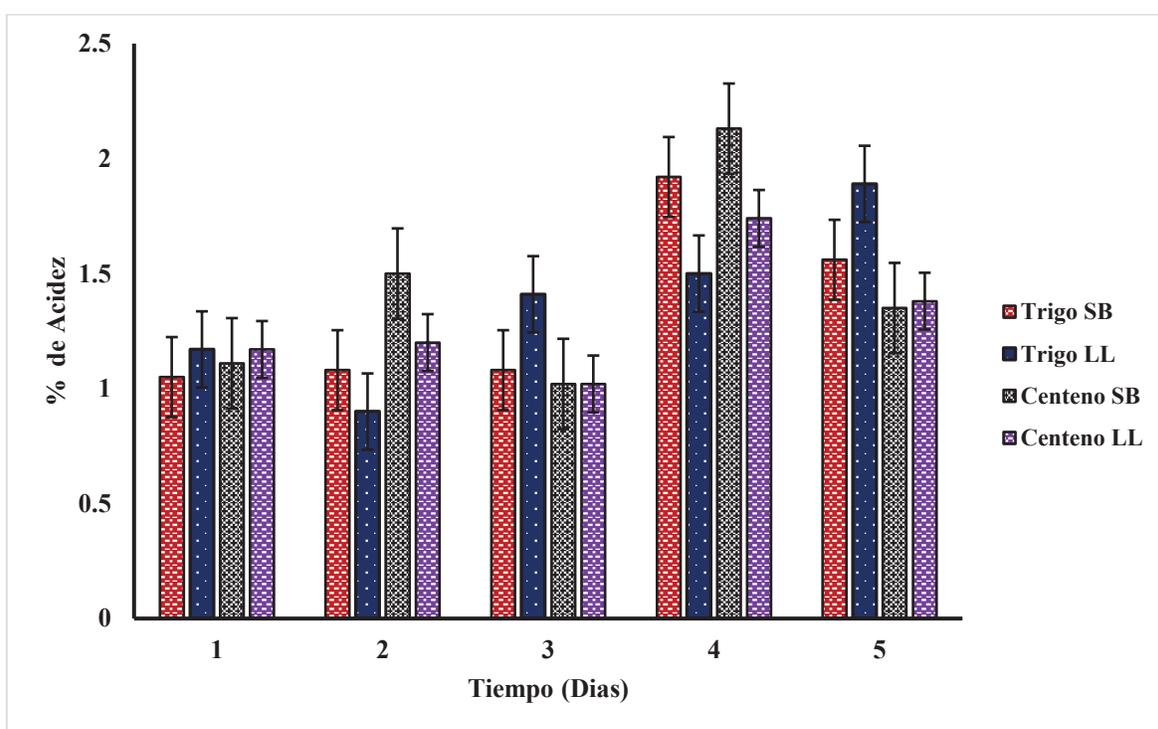


Figura 15. Monitoreo de acidez en las masas  
Fuente: Elaboración propia

### 5.1.2. Análisis de Volumen, densidad, pH, y % de acidez en el pan

Asimismo, en la Tabla 11, se aprecia las propiedades físicas del pan en las que se aprecia que el volumen obtenido fue de *Saccharomyces boulardii* en el trigo, con respecto a la densidad la bacteria de *Lactobacillus lactis* en el trigo mostro valores mayores, de igual

manera que el pH, se aprecia según la estadística correspondiente a cada uno de ellos, los parámetros indican que las cepas y el tipo de harina causan efecto en las variables analizadas, las mismas obedecen a una distribución normal y homogeneidad de varianza.

Tabla 11.

*Propiedades físicas de los tratamientos*

Tratamiento	Peso	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Volumen específico (cm <sup>3</sup> /g)	Densidad (g/ml)	pH	% de Acidez
<b>T<sub>TSb</sub></b>	37.38 ± 0.44	111.66 ± 12.58	2.98 ± 0.30	0.33 ± 0.03	6	0.15 ± 0.001
<b>T<sub>CSb</sub></b>	40 ± 0.72	63.33 ± 0.02	2.16 ± 0.18	0.67 ± 2.88	5	0.16 ± 0.002
<b>T<sub>TLI</sub></b>	42.49 ± 1.38	86.66 ± 7.63	1.48 ± 0.04	0.46 ± 0.03	6	0.11 ± 0.002
<b>T<sub>CLI</sub></b>	36.60 ± 2.24	55.00 ± 5.00	1.50 ± 0.06	0.66 ± 0.02	5	0.10 ± 0.005
p- valor						
<b>Cepa</b>	0.095	0.007	0.005	0.009	-	0.026
<b>Tipo de harina</b>	0.350	0.000	0.000	0.000	-	0.000
<b>Interacción</b>	0.001	0.099	0.004	0.005	-	0.008
<b>Normalidad</b>	0.986	0.894	0.139	0.061	-	0.322
<b>Levene</b>	0.700	0.436	0.363	0.925	-	0.854

Pascual & Zapata (2010) demostraron en su estudio que el pan de trigo con masas esponja presentan un mayor volumen (214 en un peso de 46.7), Según Montanari et al., (2014), el porcentaje de acidez se incrementa significativamente durante la fermentación, concordando así con lo hallado en nuestro estudio, por otro lado, Siepmann et al. (2019), atribuyen el incremento de la acidez a la presencia de bacterias lácticas, de modo que, lo encontrado en nuestro estudio confirma este postulado debido a que la masa con *Lactobacillus lactis* presento mayor acidez en comparación a *Saccharomyces boulardii*.

### 5.1.3. Análisis de propiedades ópticas

La tabla 12 muestra, los valores del análisis de imágenes con respecto al color de las muestras en ellas se puede apreciar las coordenadas rectangulares ( $L^*$ ,  $A^*$ ,  $B^*$ ); en ella se observa que la luminosidad ( $L^*$ ), donde el tratamiento con Centeno y cepa de *Saccharomyces boulardii* presento el mayor valor en comparación a los demás tratamientos que indica una miga más clara en contraste a las demás, con respecto al valor de A las muestras mostraron al color verde, y el valor de B muestran que el predominio de color es amarillo.

Tabla 12

*Características ópticas de los tratamientos*

<b>Tratamiento</b>	<b><math>L^*</math></b>	<b><math>A^*</math></b>	<b><math>B^*</math></b>
<b>T<sub>TSb</sub></b>	52.12 – 56.59	-9.42 a -8.69	23.03 – 23.76
<b>T<sub>CSb</sub></b>	62.47 – 77.07	-17.53 a -12.00	21.35 – 24.73
<b>T<sub>TLI</sub></b>	53.15 – 63.34	-17.75 a -13.44	25.07 – 25.29
<b>T<sub>CLI</sub></b>	54.78 – 63.71	-12.29 a -10.33	23.53 – 26.83

Para Carbas et al., (2016) el análisis de color de miga es muy importante, puesto que, en ella se puede ver las reacciones ligadas al proceso de elaboración del pan entre ellos vemos la reacción de Maillard, en su investigación halló que  $L^*$  estaba entre 63.6 a 66.6 valor muy parecido al tratamiento con centeno y SB que se encontraba entre 62.47 a 77.07 siendo esta última más clara, con respecto al valor de  $A^*$ , reportaron valores entre -0.5 a -1.1 siendo que los valores en el experimento se halló valores más distantes indicado una tendencia de matices verdes, y finalmente el valor de  $B^*$  que reportaron estuvo entre 15.1 a 35.5 valores que se asemejan a lo hallado indicando predominación de color amarillo.

Asimismo, en la figura 16 se observa los intervalos de medición del análisis óptico en ella los valores de L\* tienen mayor amplitud con respecto a los demás, también se afirma que el tratamiento de Centeno con SB, b tuvo mayor amplitud seguido de Trigo con LL, lo mismo sucede con valor de A\*, sin embargo, se puede ver en el valor de B\* intervalos más reducidos siendo el mayor el tratamiento con Centeno SB seguido de centeno LL.

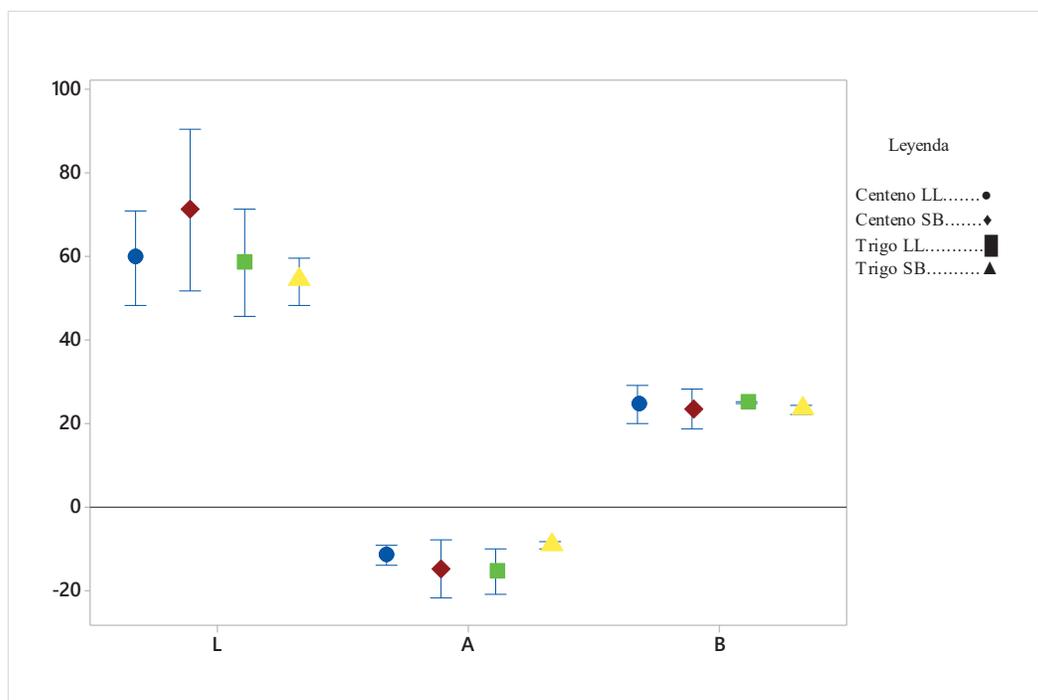


Figura 16. Intervalos de las características ópticas  
Fuente: Elaboración propia

#### 5.1.4. Análisis de porosidad.

La Tabla 13 y la figura 17 muestra los resultados de la porosidad en el pan en ella se puede apreciar que la mayor cantidad de poros se presenta en el tratamiento compuesto por trigo con SB ( $130 \pm 15$ ), seguido por Trigo con LL ( $118 \pm 10$ ) y finalmente las muestras de Centeno con SB ( $98 \pm 8$ ) y Centeno LL ( $89 \pm 4$ ); asimismo, se tiene el tamaño de cada uno de ellas en las cuales el mayor tamaño de poros es de  $5.22 \pm 5.02$  mm (Trigo SS), seguido de  $3.10 \pm 1.96$  mm (Centeno SB), y finalmente los valores de  $3.01 \pm 2.78$  mm (Centeno LL) y

2.79 ± 1.74 mm (Trigo LL); con respecto a la varianza se puede ver que la muestras de Trigo con SB y Centeno LL, presentaron datos con mayor variabilidad (25.50 y 7.71 mm respectivamente) y finalmente, con valores de Centeno SB y Trigo LL (3.83 y 3.04 mm respectivamente); por otro lado, los poros más pequeños se mostraron en la muestra de Centeno LL (0.70 mm) seguido de Centeno SB (0.78mm) y finalmente de Trigo SB y Trigo LL (0.78 y 1.11 mm respectivamente); los poros de mayor tamaño se encontraron en la muestra de Trigo SB (14.83 mm) seguido de Centeno LL (9.88 mm) y finalmente de Centeno SB y Trigo LL (6.48 y 6.35 mm respectivamente); también se puede apreciar que la forma de los poros es irregulares en todas las muestras.

Tabla 13

*Análisis estadístico del tamaño de la porosidad*

<b>Descriptivos</b>	<b>Tratamientos</b>			
	<b>Trigo SB</b>	<b>Centeno SB</b>	<b>Trigo LL</b>	<b>Centeno LL</b>
<b>Media</b>	5.22	3.10	2.79	3.01
<b>Error típico</b>	1.60	0.62	0.55	0.88
<b>Mediana</b>	3.10	2.72	2.30	2.43
<b>Desviación estándar</b>	5.05	1.96	1.74	2.78
<b>Varianza de la muestra</b>	25.50	3.83	3.04	7.71
<b>Curtosis</b>	0.30	-0.89	0.30	4.22
<b>Rango</b>	14.00	5.70	5.24	9.18
<b>Mínimo</b>	0.83	0.78	1.11	0.70
<b>Máximo</b>	14.83	6.48	6.35	9.88
<b>Nivel de confianza (95%)</b>	3.61	1.40	1.25	1.99

Para Cauvain (2012), la porosidad es muy importante debido a que esta puede no solamente variar las propiedades físicas sino también propiedades sensoriales, asimismo, se

puede afirmar que el pan fermentado con masa de trigo y la cepa de *Saccharomyces boulardii* presento las mejores características en porosidad.

La figura 17 muestra, la visión de corte de cada uno de los tratamientos en ella se aprecia que cada uno presenta un desarrollo alveolar diferente, en las masas de trigo (Figura 16<sup>a</sup> y Figura 16c), los poros son más homogéneos.

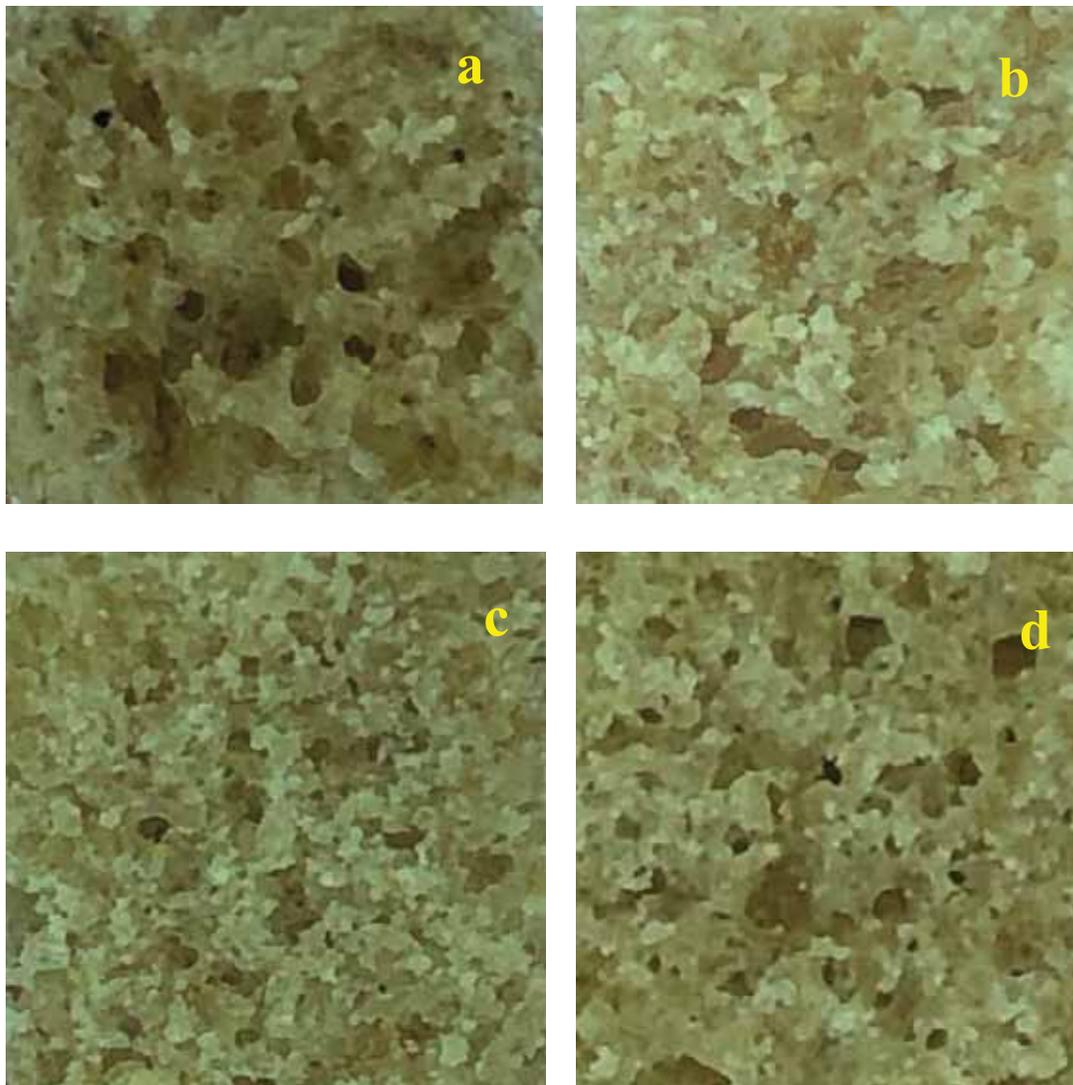


Figura 17. Visión de porosidad de cada uno de los tratamientos.

Nota: a; corresponde Trigo SB, b; corresponde a Centeno SB, c; representa a Trigo LL y d; d Centeno LL.

Fuente: Elaboración propia

Para Jha, Chevallier, Cheio, Rawson, & Le - bail (2017), hacen mención de que los poros formados dependen de la producción de gas ocasionada en la fermentación, y según el tamaño de burbuja será el tamaño de poro, asimismo, Fekri, Torbati, Yari, Bagherpour, & Azadmard (2020), mostro que diferentes géneros de microorganismos lácticos pueden generar diferentes proporciones de porosidad en el pan.

#### **5.1.5. Análisis de la composición proximal**

La tabla 14 muestra los resultados de composición proximal de cada uno de los tratamientos en ellos se puede ver que los tratamientos con SB tienen un mayor contenido de humedad en comparación de los de LL, con respecto a las cenizas ocurre lo inverso los tratamientos con LL son ligeramente superiores a los de SB, con respecto a la grasa las muestras compuestas por LL con los tipos de masa fueron mayores en comparación a los de SB, los valores de fibra encontrados fueron mayores en los tratamientos con centeno en comparación a trigo

Tabla 14

*Análisis Proximal de los tratamientos*

<b>Tratamiento</b>	<b>Humedad (%)</b>	<b>Cenizas (%)</b>	<b>Grasa (%)</b>	<b>Fibra (%)</b>	<b>Proteína (%)</b>	<b>Carbohidratos (%)</b>
<b>Trigo SB</b>	22.83 ± 1.14 <sup>a</sup>	1.02 ± 0.024 <sup>b</sup>	13.06 ± 0.07 <sup>b</sup>	2.09 ± 0.023 <sup>b</sup>	8.50 ± 0.04 <sup>a</sup>	52.50 ± 1.30 <sup>a</sup>
<b>Centeno SB</b>	22.35 ± 2.89 <sup>a</sup>	1.09 ± 0.087 <sup>b</sup>	13.51 ± 0.23 <sup>b</sup>	3.80 ± 0.50 <sup>a</sup>	7.80 ± 0.03 <sup>b,c</sup>	51.75 ± 2.20 <sup>a</sup>
<b>Trigo LL.</b>	19.16 ± 3.08 <sup>a</sup>	1.18 ± 0.004 <sup>a,b</sup>	16.69 ± 1.26 <sup>a</sup>	2.10 ± 0.01 <sup>a,b</sup>	8.23 ± 0.15 <sup>a,b</sup>	52.64 ± 0.52 <sup>a</sup>
<b>Centeno LL.</b>	18.67 ± 3.29 <sup>a</sup>	1.26 ± 0.091 <sup>a</sup>	16.53 ± 1.31 <sup>a</sup>	3.22 ± 1.20 <sup>a,b</sup>	7.25 ± 0.50 <sup>c</sup>	53.07 ± 1.50 <sup>a</sup>
<b>P – Valor</b>						
<b>Cepa</b>	0.049	0.001	0.000	0.469	0.027	0.425
<b>Tipo de harina</b>	0.765	0.363	0.791	0.005	0.001	0.858
<b>Interacción</b>	0.995	0.251	0.580	0.455	0.382	0.516
<b>Normalidad</b>	0.1	0.544	0.062	0.005	0.229	0.921
<b>Levene</b>	0.927	0.468	0.183	0.097	0.107	0.507

Nota: <sup>a,b,c</sup> los tratamientos que comparten letras son estadísticamente iguales a una significancia del 95%

### 5.1.6. Analisis Sensorial.

La Tabla 15 muestra los resultados del perfil sensorial de cada una de los tratamientos, con respecto al atributo de olor siendo el tratamiento con harina de trigo y la cepa de *Saccharomyces boulardii* presento la mayor preferencia con un valor de  $6.63 \pm 1.91$ , seguido de la misma harina pero con la cepa de *Lactobacillus lactis* con  $6.17 \pm 1.92$ , con respecto al color el tratamiento con mayor aceptación fue el compuesto por harina de centeno y cepa de *Saccharomyces boulardii* con un valor de  $8.03 \pm 0.12$ , asimismo, el análisis de sabor muestra que el tratamiento con mayor aceptación fue compuesto por harina de trigo y la cepa de *Lactobacillus lactis*, también se aprecia sobre la textura que el tratamiento con mayor valor fue el tratamiento con harina de trigo y la cepa de *Saccharomyces boulardii* con un valor de  $6.97 \pm 2.42$  y finalmente se aprecia los valores de Apariencia general fue el tratamiento con harina de trigo y la cepa de *Saccharomyces boulardii* con un valor de  $7.07 \pm 1.87$ ; Asimismo, se aprecia en la tabla que existen diferencias entre las muestras en las muestras que no comparten letras.

Tabla 15

#### *Perfil sensorial de los tratamientos*

Tratamiento	Perfil Sensorial				
	Olor	Color	Sabor	Textura	Apariencia general
<b>Trigo Sb</b>	$6.63^a \pm 1.91$	$7.00^{ab} \pm 2.35$	$6.17^{ab} \pm 1.95$	$6.97^a \pm 2.42$	$7.07^a \pm 1.87$
<b>Centeno SB</b>	$5.97^{ab} \pm 0.34$	$8.03^a \pm 0.12$	$5.81^b \pm 0.20$	$5.87^a \pm 0.10$	$5.81^{ab} \pm 0.20$
<b>Trigo LL</b>	$6.17^{ab} \pm 1.92$	$5.67^{bc} \pm 2.87$	$7.27^a \pm 2.18$	$5.77^a \pm 2.28$	$6.40^a \pm 2.19$
<b>Centeno LL</b>	$5.26^b \pm 0.14$	$5.12^c \pm 0.30$	$6.23^{ab} \pm 0.23$	$5.82^a \pm 0.09$	$4.96^b \pm 0.08$

\*abc las medias que no comparten letra son significativamente diferente

Según Torner et al. (1992), el cambio en las propiedades sensoriales se debe a que los microorganismos en el proceso de la fermentación generan metabolitos que pueden ocasionar modificaciones en estas; Asimismo, Xi et al., (2020), concuerda, que el desarrollo de microorganismos en masas genera cambios ya que se forman compuestos volátiles.

La figura 18, muestra los graficos de barras y los efectos de las variables en estudio con respecto a los atributos del olor, color, sabor y textura; en ella se puede apreciar que con respecto al olor que el tipo de masa fue quien marco las diferencias en los tratamientos, con respecto al color las cepas fueron las que marcaron estas diferencias, sobre el sabor ninguna variable genero cambios significativos, tambien ocurrio lo mismo con respecto a la textura.

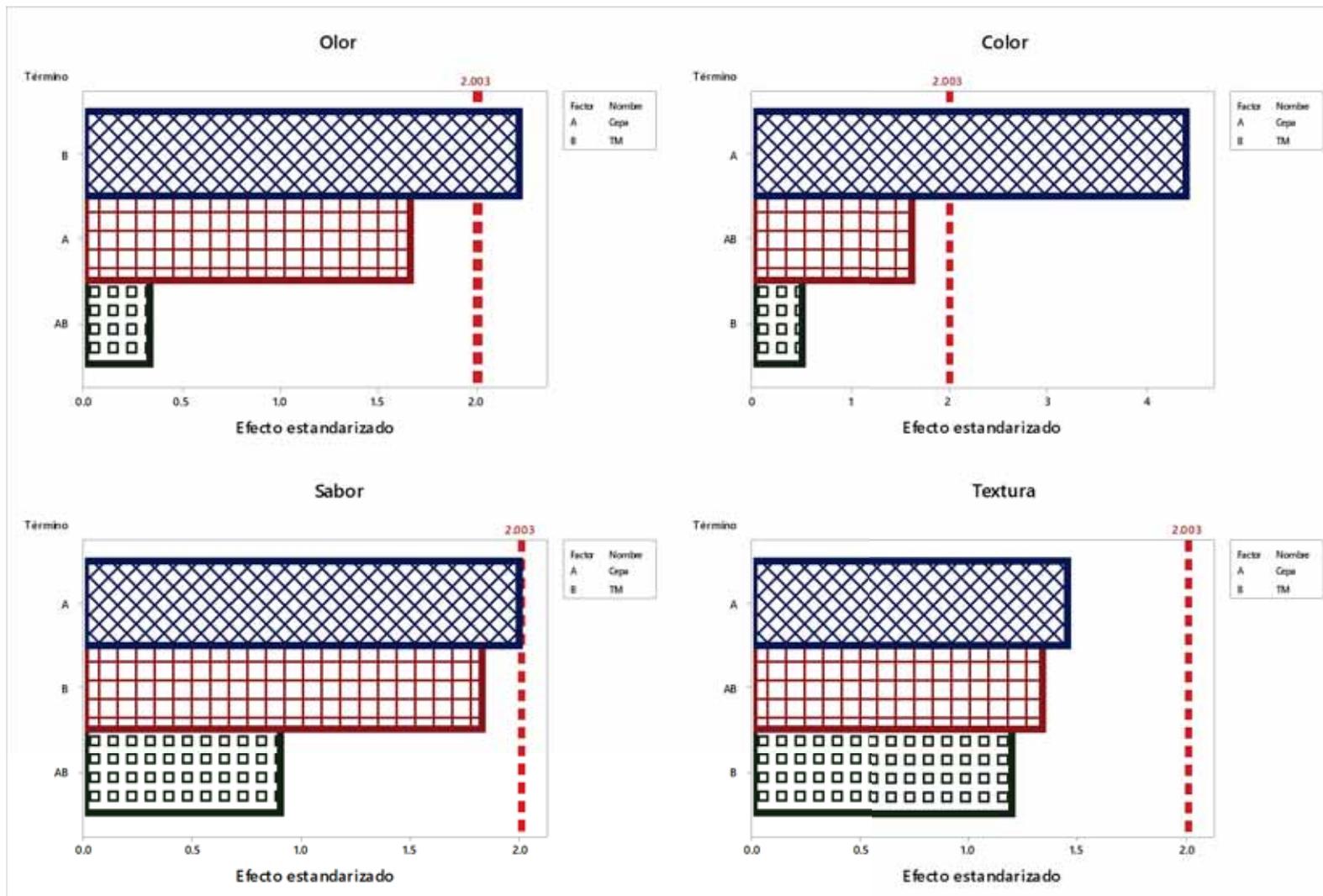


Figura 18. Gráfica de efectos para los perfiles sensoriales de olor, color, sabor y textura  
Fuente: Elaboración propia

Asimismo, la figura 19 muestra el gráfico de superficie de respuesta de la apariencia general en la cual se aprecia que T<sub>TSb</sub> obtuvo el mayor

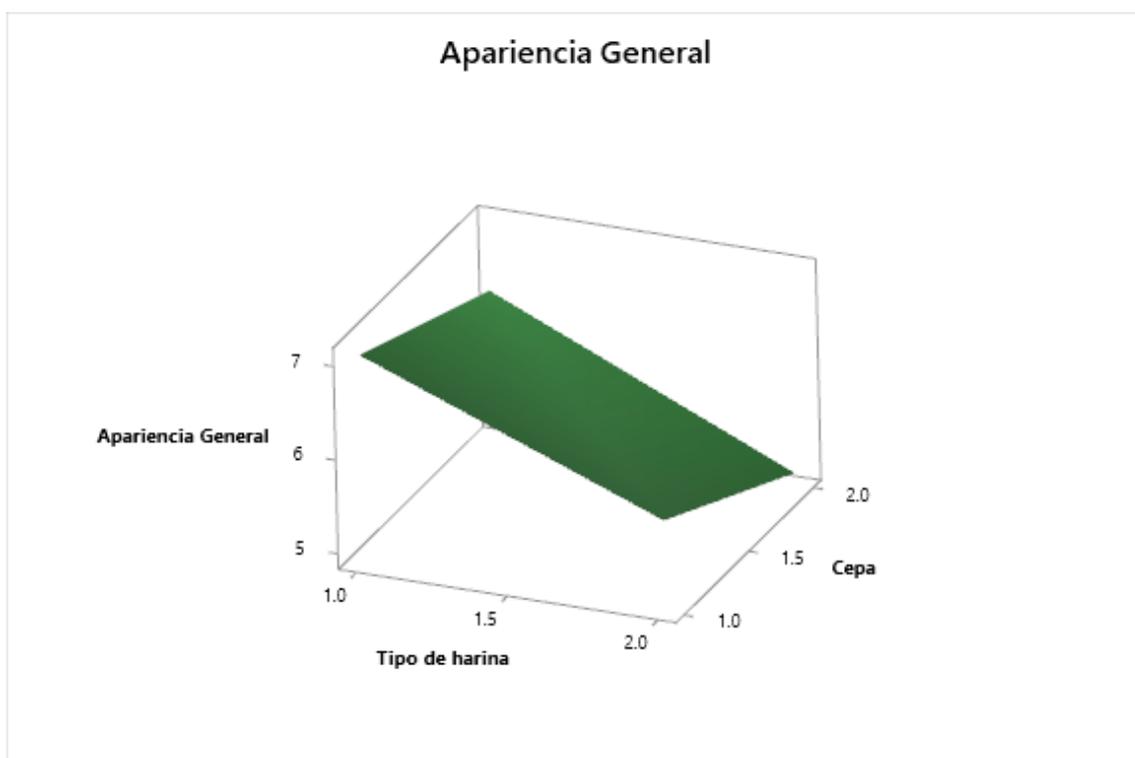


Figura 19. Grafica de superficie de respuesta para la apariencia general  
Fuente: Elaboración propia

### 5.1.7. Crecimiento microbiano

#### 5.1.7.1. Crecimiento microbiano de *Saccharomyces boulardii*

La tabla 16, muestra los parámetros estimados de la cinética de crecimiento aplicado al crecimiento de *Saccharomyces boulardii* en las masas de trigo y centeno respectivamente, en esta tabla se puede apreciar que existe similitud en los parámetros de cada uno de los modelos la cual se ve reflejada en la bondad de ajuste presentados. Con respecto al parámetro C, se puede observar que la masa de trigo en ambos modelos presenta los valores más altos con 0.239 para Gompertz y 0.219 para el modelo Logístico, respecto al parámetro B, los valores más elevados se ajustaron al modelo Logístico en ambas masas en la cual la masa de centeno presentó el valor más alto con 1.891, también lo mismo ocurrió con respecto al parámetro M, cuyo valor más alto fue de 1.795 que

corresponde al modelo logístico con la masa de centeno, con respecto a  $\mu_{\text{máx}}$ , se aprecia que para ambos modelos la masa de trigo presentó el mayor valor con 0.333 para Gompertz y 0.385 para el modelo Logístico, con respecto a la tasa de crecimiento ( $\lambda$ ), los valores más altos los presentan ambas masas en el modelo Logístico de los cuales la masa de centeno tiene un valor de 0.496 y finalmente el tiempo de generación más corto se da en el modelo de Gompertz con la masa de trigo.

Tabla 16

*Cinética de crecimiento microbiano de Saccharomyces boulardii*

Medio de Crecimiento	Parámetros					
	C	B	M	$\mu_{\text{máx}}$ (h <sup>-1</sup> )	$\lambda$ (h)	G (h)
<b>Modelo de Gompertz</b>						
<b>Trigo</b>	0.239	0.810	1.390	0.333	0.136	2.080
<b>Centeno</b>	0.172	1.109	1.535	0.265	0.071	2.612
<b>Modelo Logístico</b>						
<b>Trigo</b>	0.219	1.358	1.751	0.385	0.204	1.798
<b>Centeno</b>	0.160	1.891	1.795	0.287	0.496	2.410

Nota:  $\mu_{\text{máx}}$ , es la tasa de crecimiento;  $\lambda$ , es el tiempo de duración de la fase lag y G, es el tiempo de generación

En el valor C, se aprecia que los valores son superiores en el trigo en comparación al centeno para ambos modelos, según Coll, Giannuzzi, Noia, & Zaritzky (2001); estos nos permiten definir cada parámetro en función a su crecimiento para B y M el centeno presenta un valor mayor; en  $\mu_{\text{máx}}$ , el trigo muestra valores superiores que el centeno.

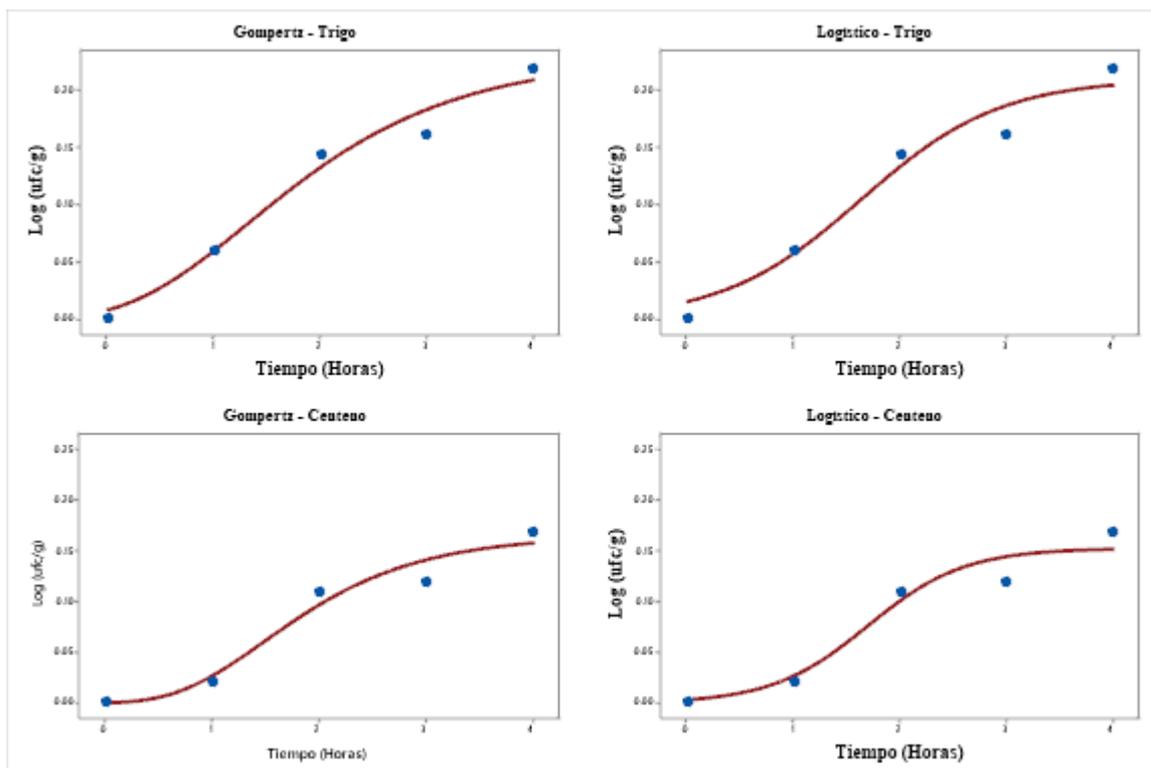


Figura 20. Cinética microbiana de *Saccharomyces boulardii*  
Fuente: Elaboración propia

La tabla 17, muestra los parámetros estimados de la cinética de crecimiento aplicado al crecimiento de *Lactobacillus lactis* en las masas de trigo y centeno respectivamente, en esta tabla se puede apreciar que existe similitud en los parámetros de cada uno de los modelos la cual se ve reflejada en la bondad de ajuste presentados. Con respecto al parámetro C, se puede observar que la masa de centeno en ambos modelos presenta los valores más altos con 1.64 para Gompertz y 1.60 para el modelo Logístico, respecto al parámetro B, los valores más elevados se ajustaron al modelo Logístico en ambas masas en la cual la masa de centeno presento el valor más alto con 2.37; también lo mismo ocurrió con respecto al parámetro M, cuyo valor más alto fue de 1.61 que corresponde al modelo logístico con la masa de centeno, con respecto a  $\mu_{\text{máx}}$ , se aprecia que para ambos modelos la masa de centeno presento el mayor valor con 2.20 para Gompertz y 2.58 para el modelo Logístico, con respecto a la tasa de crecimiento ( $\lambda$ ), los valores más altos los presentan ambas masas en el modelo Gompertz de los cuales la masa

de trigo tiene un valor de 0.66 y finalmente el tiempo de generación más corto se da en el modelo de Logístico con la masa de centeno.

Tabla 17

*Cinética de crecimiento microbiano de Lactobacillus lactis*

Medio de Crecimiento	Parámetros					
	C	B	M	$\mu_{\text{máx}}$ (h <sup>-1</sup> )	$\lambda$ (h)	G (h)
<b>Modelo de Gompertz</b>						
<b>Trigo</b>	1.24	1.15	0.85	1.05	0.18	0.66
<b>Centeno</b>	1.64	1.53	1.34	2.20	0.40	0.32
<b>Modelo Logístico</b>						
<b>Trigo</b>	1.19	1.76	1.16	1.38	0.66	0.50
<b>Centeno</b>	1.60	2.37	1.61	2.58	0.85	0.27

La figura 21 muestra, que las masas de trigo en ambos modelos presentan un buen ajuste en contraste a los experimentos compuestos por las masas de centeno en la que el desarrollo cinético fue inferior.

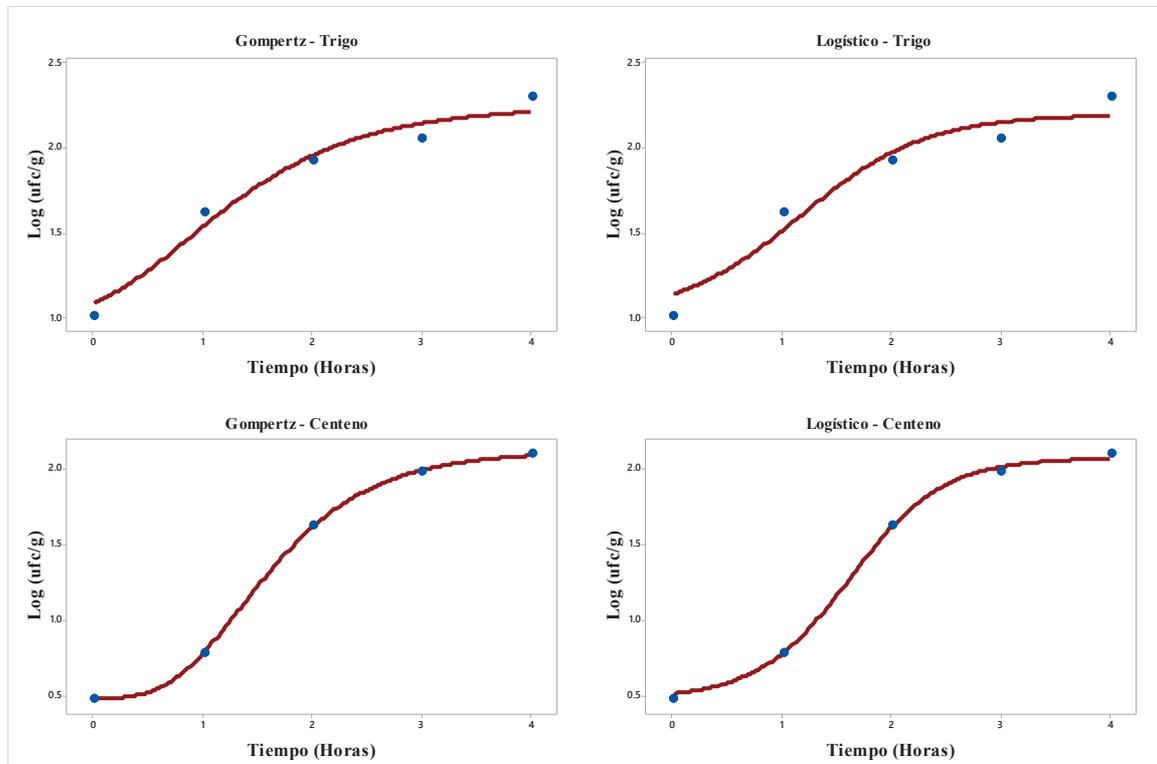


Figura 21. Cinética microbiana de *Lactobacillus lactis*  
Fuente: Elaboración propia

## CONCLUSIONES

1.- Las propiedades físicas analizadas se ven afectadas durante la fermentación de las masas siendo estas diferentes, respecto al volumen de hinchamiento el mayor valor fue dado por el prefermento compuesta por trigo y *Saccharomyces boulardii* con 22 mm, asimismo, el pH de los prefermentos óptimos corresponde al tratamiento de harina de trigo con ambas cepas presentando un valor alrededor de 4.13 y con respecto al porcentaje de acidez, los prefermentos presentaron valores más elevados al cuarto día que van desde 1.5 a 2.13%. Asimismo, las propiedades físicas del pan en cada uno de los tratamientos mostraron que T<sub>TSb</sub> presento el valor más bajo con  $37.38 \pm 0.44$  g de peso; para el volumen específico, el valor más alto con  $2.98 \pm 0.30$  cm<sup>3</sup>/g para T<sub>TSb</sub>; respecto a la densidad el valor más elevado fue de  $0.67 \pm 2.88$  g/mL para T<sub>CSb</sub>; por otro lado, el pH en los panes con los prefermentos de trigo con ambas cepas dio un valor de 6, para el resto fue de 5 y el porcentaje de acidez vario desde 0.10 a 0.16.

2.- Las propiedades ópticas de la muestra compuesta por centeno con la cepa de *Lactobacillus lactis* mostro mayor luminosidad (L), asimismo, todas las muestras tienden a una coloración verde (-A), y una coloración amarilla (B) en todos los tratamientos, también, cada uno de los tratamientos presentan variabilidad en la composición proximal, siendo superior en los tratamientos compuestos por los prefermentos compuestos por harina de Trigo con ambas cepas destacando el contenido de proteínas con valores de 8.50% para T<sub>TSb</sub> y 8.23% de T<sub>TLI</sub>. Por otro lado, el análisis sensorial revelo que la composición de los prefermentos en harinas de trigo y centeno con las cepas de estudio influyen en los perfiles sensoriales, en la cual se encontró que T<sub>TSb</sub> fue él que tuvo mayor aceptación en contraste a los demás tratamientos.

3.- Se encontró que *Saccharomyces boulardii* tuvo un mejor desarrollo que *Lactobacillus lactis* en la cinética microbiana y el modelo de mayor ajuste fue el modelo matemático de Gompertz.

## **RECOMENDACIONES**

- 1.- Realizar un análisis de metabolitos como la producción de CO<sub>2</sub> en las masas.
- 2.- Realizar un análisis de fenoles y antioxidantes a los panes.
- 3.- Realizar pruebas de comparación estadísticas entre un patrón y tratamientos mediante un test de Duncan.
- 4.- Se debe realizar un estudio más amplio con respecto al análisis sensorial aplicando métodos que puedan describir los perfiles con detalle cómo se hace en el método CATA.
5. Desarrollar diseños experimentales que contemplen el uso de ambas cepas en un solo prefermento.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abang, D., Chin, N., & Yusof, Y. (2010). A Review on Rheological Properties and Measurements of Dough and Gluten. *Journal of Applied Sciences*, 10.
- Acevedo G., C., Romero O., J., & Espejo T., R. (2004). Actividad De Distintas Presentaciones Comerciales De *Saccharomyces Boulardii*. *Revista Chilena de Nutrición*, 31(1), 33–38. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182004000100004>
- Araneda, X., Velásquez, C., Morales, D., & Martínez, I. (2014). Producción de pan de abejas (*Apis mellifera* L.) bajo condiciones de laboratorio. *Idesia (Arica)*, 32(4), 63–69. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292014000400008>
- Carbas, B., Vazo, M., Bronze, M., Bento, A., Trigo, M., & Brites, C. (2016). Maize flour parameters that are related to the consumer perceived quality of “broa” specialty bread. *Food Science and Technology*, 36(2), 259–267.
- Castro, G., Valbuena, E., Sánchez, E., Briñez, W., Vera, H., & Leal, M. (2008). Comparación de modelos sigmoidales aplicados al crecimiento de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. *Revista Científica FCV-LUZ*, XVIII, 582–588.
- Cauvain, S. (2012). Breadmaking: Improving quality, Second Edition. In *Breadmaking: Improving quality, Second Edition*. <https://doi.org/10.1533/9780857095695>
- Cauvain, S. P., & Young, L. S. (2007). *Technology of Breadmaking (Google eBook)*.
- Cauvain, S., & Young, L. (2007). *Technology of Breadmaking (Springer, Ed.; Second)*.
- Coll, F., Giannuzzi, L., Noia, M., & Zaritzky, N. (2001). El Modelado Matemático: Una Herramienta Útil para la Industria Alimenticia. *Ciencia Veterinaria.*, 22–28.

- Fekri, A., Torbati, M., Yari, A., Bagherpour, H., & Azadmard, S. (2020). Functional effects of phytate-degrading, probiotic lactic acid bacteria and yeast strains isolated from Iranian traditional sourdough on the technological and nutritional properties of whole wheat bread. *Food Chemistry*, 306(September 2019), 125620. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125620>
- Flores, A., & Chavez, V. (2006). Masas agrias de centeno como iniciadores en panificación. *Resumen Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería.*, 1986, 58044712.
- Galindo, P., Medina, S., Sanchez, J., & Rodrigo, E. (2016). El pan biológico integral artesano con levadura madre, clave para la seguridad y soberanía alimentarias, la nutrición humana y la sostenibilidad de los agrosistemas. *Actas Del XII Congreso SEAE. Leguminosas: Clave En La Gestión de Los Agrosistemas y La Alimentación Ecológica.*, 2007, 21–24.
- Hui, Y., Nip, W., Nollet, L., Paliyath, G., & Simpson, B. (2007). Food Biochemistry and Food Processing. In *Food Biochemistry and Food Processing*. <https://doi.org/10.1002/9780470277577>
- Jha, P., Chevallier, S., Cheio, J., Rawson, A., & Le - bail, A. (2017). Impact of resting time between mixing and shaping on the dough porosity and final cell distribution in sandwich bread. *Journal of Food Engineering*, 194, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.07.016>
- León, P., Ángela, M., Montoya, C., Olga, I., Karina, E., Diana, M., & Juan, M. (2006). Bacterias ácido lácticas (BAL) silvestres colombianas presentan propiedades adecuadas para la fabricación de masa ácida. *Vitae*, 13(2), 26–35.
- Li, Z., Li, H., & Bian, K. (2016). Microbiological characterization of traditional dough fermentation starter (Jiaozi) for steamed bread making by culture-dependent and culture-

independent methods. *International Journal of Food Microbiology*, 234, 9–14.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.06.024>

McFarland, L. V. (2016). Common Organisms and Probiotics: *Saccharomyces boulardii*. In *The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology: Implications for Human Health, Prebiotics, Probiotics, and Dysbiosis* (Issue 1). Elsevier Inc.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804024-9.00018-5>

Mesas, J., & Alegre, M. (2002). El pan y su proceso de elaboración. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 3(5), 307313. <https://doi.org/1135-8122>

Montanari, Ch., Bargossi, E., Lanciotti, R., Chinnici, F., Gardini, F., & Tabanelli, G. (2014). Effects of two different sourdoughs on the characteristics of Pandoro, a typical Italian sweet leavened baked good. *LWT - Food Science and Technology*, 59(1), 289–299.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.045>

Pascual, G., & Zapata, J. (2010). Sustitución Parcial De Harina De Trigo *Triticum Aestivum* L. Por Harina De Kiwicha *Amaranthus Caudatus* L., Usando El Método Directo Y Esponja Y Masa, En La Elaboración De Pan. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 76(4), 377–388.

Prieto, M., Mouwen, J., López, S., & Cerdeño, A. (2008). Concepto de calidad en la industria alimentaria. *Interciencia*, 33(4), 258–264.

Quintero, C., & Rueda, H. (2008). Optimización de las condiciones de proceso para la elaboración de la esponja líquida de pan de molde a través de un diseño factorial de experimentos. *Revista Publicaciones e Investigación*, 2(1900–6608), 43–65.

Ramírez, J., Rosas, P., Velázquez, M., Ulloa, J., & Arce, F. (2011). Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente*, 7, 16.

- Restrepo, J. M., Echeverri, S., & Valencia, J. (2006). Bacterias Ácido Lácticas (Bal) Silvestres Colombianas Presentan Propiedades Adecuadas Para La Fabricación De Masa Ácida Colombian Wild Lactic Acid Bacteria (Lab) Show Good Properties in Sourdough Manufacture. *Vitae*, *13*(2), 26–35.
- Rodriguez, M., & Chambi, A. (2019). Determinación de la curva de crecimiento microbiano *Saccharomyces Boulardii* en Tunta variedades Chaska y Negra. *Fides et Ratio*, *18*, 201–213.
- Rollema, H., Kuipers, O., Both, P., De Vos, W., & Siezen, R. (1995). Improvement of solubility and stability of the antimicrobial peptide nisin by protein engineering. *Applied and Environmental Microbiology*, *61*(8), 2873–2878.
- Sánchez, Maria., Ruiz, María., & Morales, María. (2015). Microorganismos probióticos y salud. *Ars Pharmaceutica*, *56*(1), 45–59. <https://doi.org/10.4321/S2340-98942015000100007>
- Sancho, R. (2015). *Ajuste de modelos matemáticos de crecimiento de bacterias lácticas en queso tipo paria en condiciones isotérmicas y no isotérmicas.*
- Siepmann, F., Sousa, B., Waszczynskyj, N., & Spier, M. (2019). Influence of temperature and of starter culture on biochemical characteristics and the aromatic compounds evolution on type II sourdough and wheat bread. *LWT - Food Science and Technology*, *108*(March), 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.065>
- Söderin, G., & Strachal, G. (2014). *Baking Sourdough Bread Dozens of Recipes for Artisan Loaves Crackers and Sweet Breads.* Skyhorse Publishing.
- Torner, M., Martínez, M., Antuña, B., & Benedito de Barber, C. (1992). Headspace flavour compounds produced by yeasts and lactobacilli during fermentation of preferments and

bread doughs. *International Journal of Food Microbiology*, 15(1–2), 145–152.  
[https://doi.org/10.1016/0168-1605\(92\)90143-Q](https://doi.org/10.1016/0168-1605(92)90143-Q)

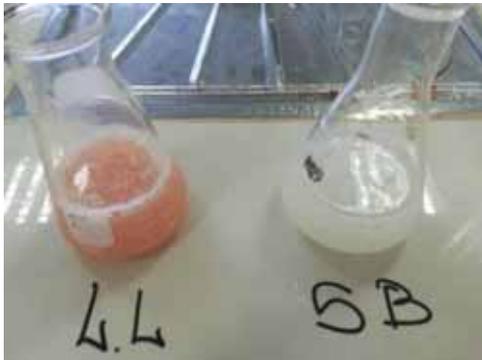
Wang, X., Zhao, R., & Yuan, W. (2019). Type I sourdough steamed bread made by retarded sponge-dough method. *Food Chemistry*, 126029.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126029>

Zabala, O. (2019). *Efecto de la sustitución parcial de harina de trigo (Triticum aestivium) por harina de tarwi (Lupinus mutabilis sweet) en las propiedades físicoquímicas y sensoriales de cupcakes.*

Zuleta, A., Binaghi, M., Greco, C., Aguirre, C., De la Casa, L., Tadini, C., & Ronayne, P. (2012). Diseño de panes funcionales a base de harinas no tradicionales. *Revista Chilena de Nutrición*, 39(3), 58–64. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182012000300009>

## Anexos

### Anexo 1. Preparación de los prefermentos



Activacion de cepas



Preparacion de prefermentos



Preparacion de prefermentos



Punto de activacion



Punto de activacion

## Anexo 2. Análisis fisicoquímicos



Análisis de grasas



Análisis de proteínas



Análisis de cenizas



Análisis de Fibra

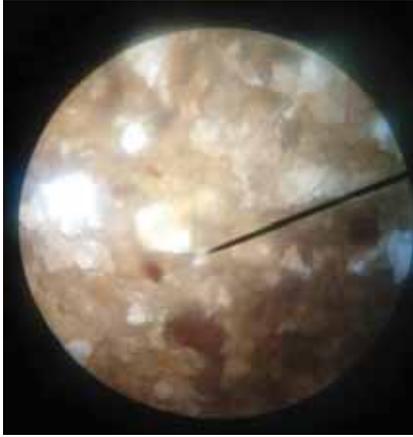


Análisis de Humedad

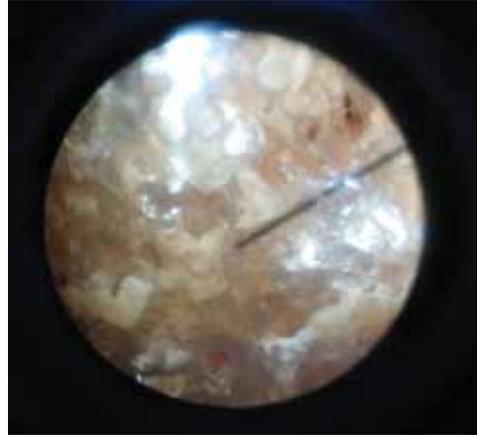


Análisis de volumen

### Anexo 3. Análisis de Imágenes



Corte lateral de pan con T<sub>TSb</sub>



Corte lateral de pan con T<sub>LI</sub>



Fotografía de toma de fotos para análisis de imagen

## Anexo 4. Formato de encuesta de Evaluación Sensorial

### FORMATO DE EVALUACIÓN PRUEBA DEL GRADO DE SATISFACCIÓN CON ESCALA HEDÓNICA

Apellidos y Nombres: .....	Fecha: .... / .... / ....
	Hora: .....

#### 1. INDICACIONES

Ud. evaluará cuatro muestras de pan en cuanto a los atributos de olor, color, sabor, textura y apariencia general en el orden indicado. Marque en la escala, con un aspa, el renglón que corresponda a la calificación para cada muestra.

#	DESCRIPCIÓN	Muestra: T <sub>TSb</sub>			Muestra: T <sub>CSb</sub>			Muestra: T <sub>TU</sub>			Muestra: T <sub>CU</sub>			
		O	C	S	O	C	S	O	C	S	O	C	S	AG
1	Me disgusta extremadamente													
2	Me disgusta mucho													
3	Me disgusta bastante													
4	Me disgusta ligeramente													
5	Ni me gusta ni me disgusta													
6	Me gusta ligeramente													
7	Me gusta bastante													
8	Me gusta mucho													
9	Me gusta extremadamente													

O: Olor

C: Color

S: Sabor

T: Textura

AG: Apariencia General

#### 2. OBSERVACIONES

---



---



---



---

¡Muchas Gracias por su participación!

## Anexo 5. Base de datos de análisis realizados a las masas

**Tabla de datos del monitoreo del volumen (mm) de los tratamientos en las masas**

Tiempo (Horas)	Tratamientos			
	T <sub>TSb</sub>	T <sub>CSb</sub>	T <sub>TLI</sub>	T <sub>CLI</sub>
1	10	10	10	10
2	13	12	10	11
3	16	14	12	10
4	22	13	14	10

**Tabla de datos del monitoreo del pH de los tratamientos en las masas**

Tiempo (Días)	Tratamientos			
	T <sub>TSb</sub>	T <sub>CSb</sub>	T <sub>TLI</sub>	T <sub>CLI</sub>
1	5.30	5.40	5.40	4.63
2	5.53	5.53	4.86	4.73
3	4.26	5.63	4.66	4.86
4	4.13	5.73	4.00	4.90
5	4.06	5.63	4.13	5.16

**Tabla de datos del monitoreo de la acidez**

Tratamientos	Tiempo (Días)				
	Primer día	Segundo día	Tercer día	Cuarto día	Quinto día
T <sub>TSb</sub>	1.05	1.08	1.08	1.92	1.56
T <sub>CSb</sub>	1.17	0.9	1.41	1.50	1.89
T <sub>TLI</sub>	1.11	1.5	1.02	2.13	1.35
T <sub>CLI</sub>	1.17	1.2	1.02	1.74	1.38

## Anexo 6. Base de datos de análisis de los tratamientos

### Tabla de datos recolectados de propiedades físicas

Tratamiento	Repeticiones	Peso	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Volumen específico (cm <sup>3</sup> /g)	Densidad (g/ml)	pH	% de Acidez
T <sub>TSb</sub>	R1	37.38	111.63	2.88	0.3	6	0.15
	R2	37.82	124.27	3.38	0.33	6	0.151
	R3	36.94	99.1	2.68	0.27	6	0.149
	<b>Promedio</b>	<b>37.38</b>	<b>111.66</b>	<b>2.98</b>	<b>0.3</b>	<b>6</b>	<b>0.15</b>
T <sub>Csb</sub>	R1	40.1	63.31	2.16	0.65	5	0.16
	R2	40.62	63.33	2.34	0.21	5	0.162
	R3	39.28	63.35	1.98	1.16	5	0.158
	<b>Promedio</b>	<b>40</b>	<b>63.33</b>	<b>2.16</b>	<b>0.67</b>	<b>5</b>	<b>0.16</b>
T <sub>TLI</sub>	R1	42.49	86.53	1.48	0.43	6	0.11
	R2	43.66	81.67	1.52	0.46	6	0.112
	R3	41.33	91.77	1.44	0.49	6	0.108
	<b>Promedio</b>	<b>42.49</b>	<b>86.66</b>	<b>1.48</b>	<b>0.46</b>	<b>6</b>	<b>0.11</b>
T <sub>CLI</sub>	R1	34.40	60.00	1.56	0.64	5	0.1
	R2	36.60	55.00	1.5	0.66	5	0.105
	R3	38.81	50.00	1.44	0.68	5	0.095
	<b>Promedio</b>	<b>36.60</b>	<b>55.00</b>	<b>1.5</b>	<b>0.66</b>	<b>5</b>	<b>0.1</b>

### Tabla de datos recolectados del análisis proximal de los panes

Tratamiento	Repeticiones	Humedad	Cenizas	Grasa	Fibra	Proteína	Carbohidratos
T <sub>TSb</sub>	R1	23.97	1.04	13.13	2.06	8.54	52.50
	R2	22.83	1.02	13.06	2.11	8.46	53.80
	R3	21.69	0.99	12.99	2.09	8.50	51.20
	<b>Promedio</b>	<b>22.83</b>	<b>1.02</b>	<b>13.06</b>	<b>2.09</b>	<b>8.50</b>	<b>52.50</b>
T <sub>Csb</sub>	R1	22.35	1.00	13.74	4.3	7.80	51.75
	R2	25.24	1.17	13.28	3.8	7.83	53.95
	R3	19.46	1.09	13.51	3.3	7.77	49.55
	<b>Promedio</b>	<b>22.35</b>	<b>1.09</b>	<b>13.51</b>	<b>3.8</b>	<b>7.80</b>	<b>51.75</b>
T <sub>TLI</sub>	R1	16.08	1.180	16.69	2.11	8.38	53.16
	R2	22.24	1.184	17.95	2.09	8.08	52.64
	R3	19.16	1.176	15.43	2.10	8.23	52.08
	<b>Promedio</b>	<b>19.16</b>	<b>1.180</b>	<b>16.69</b>	<b>2.10</b>	<b>8.23</b>	<b>52.64</b>
T <sub>CLI</sub>	R1	21.96	1.35	16.53	4.42	7.75	53.07
	R2	18.67	1.26	15.22	3.22	6.75	51.57
	R3	15.38	1.16	17.84	2.02	7.25	54.57
	<b>Promedio</b>	<b>18.67</b>	<b>1.26</b>	<b>16.53</b>	<b>3.22</b>	<b>7.25</b>	<b>53.07</b>