

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS



EVALUACIÓN DE CONSERVADORES NATURALES (ácido cítrico, vinagre de manzana y aceite esencial de orégano) EN PANES TIPO MUFFINS.

Por:

JUAN CARLOSTRUJILLO HERNÁNDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México, Diciembre 2015.

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS**

EVALUACIÓN DE CONSERVADORES NATURALES (ácido cítrico, vinagre de manzana y aceite esencial de orégano) EN PANES TIPO MUFFINS.

Por:

JUAN CARLOS TRUJILLO HERNÁNDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS.

COMITÉ DE TESIS

Dr. Heliodoro de la Garza Toledo.
Asesor principal

MC. Xochitl Ruelas Chacón
Coasesor

Dr. Efraín Castro Narro
Coasesor

Buenavista, Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México, Diciembre 2015.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTINO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS

EVALUACIÓN DE CONSERVADORES NATURALES (ácido cítrico, vinagre de manzana y aceite esencial de orégano) EN PANES TIPO MUFFINS.

Por:

JUAN CARLOS TRUJILLO HERNÁNDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS.

COMITÉ EXAMINADOR

Dr. Antonio Francisco Aguilera Carbó
Presidente

Lic. Laura Oliva Fuentes Lara
Vocal

Dr. Heliodoro de la Garza Toledo
Vocal

Dr. José Dueñez Alanís
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

Buenavista, Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México, Diciembre 2015.

Nunca imagine llegar hasta estas alturas, estudie la primaria en una escuela bilingüe en un lugar muy alejado de la ciudad en donde muy pocos conocen, ahí mismo estudie la secundaria y para la preparatoria viaje a otra comunidad similar a la anterior, no son escuelas reconocidas y muchos lo toman por de menos, pero quien se imaginaria de que en esas escuelas estaban y están formando personas que traen ese espíritu de lucha, de esfuerzo, dedicación y que siempre llevan en alto el nombre de esos hogares, ahora se cumple un nuevo objetivo de mi parte y sé que nuestra gente nos necesita, y para ahí vamos para que juntos sigamos creciendo.

AGRADECIMIENTOS

A quien agradeceré si no a tí Señor Padre Celestial, a tí mis más grandes agradecimientos por darme esta oportunidad y poner tus ojos en esta humilde persona que ha logrado y llegado a ser gracias a tu infinita misericordia y amor.

Maravilloso Dios te doy gracias por cuidar cada paso que he dado, por llevarme con bien a casa y así mismo regresarme a seguir este sueño de formación profesional, eres fiel en tu palabra: Jehová guardara tu salida y tu entrada, desde ahora y para siempre (SALMOS 121:8), gracias porque me has guardado, por cuidar a mi familia y mantenerlos con bien, he entendido que tienes un propósito en cada vida, hay personas que al volver no los veré pero te agradezco porque tu estas siempre en los momentos complicados y difíciles.

De igual forma te agradezco infinitamente por darme fuerzas, para seguir adelante, por sanar heridas tan grandes, por darme sabiduría en los exámenes, tareas y proyectos, cuantas cosas he logrado durante esta estancia universitaria pero todo gracias a Tí mi Dios, sí tí reconozco que no soy nadie y que no poder realizar nada. Gracias también por permitir conocerte más y enseñarme a vivir estos años, por conocer maravillosas personas entre ellas la mujer más hermosa (tu hija) Betty que hemos compartido bellos momentos.

Gracias Padre Celestial.

Jehová es mi pastor; nada me faltará. En lugares de delicados pastos me hará descansar; Junto a aguas de reposo me pastoreará. Confortará mi alma; Me guiará por sendas de justicia por amor de su nombre. Aunque ande en valle de sombra de muerte, no temeré mal alguno, porque tú estarás conmigo; Tú vara y tu cayado me infundirán aliento. Aderezas mesa delante de mí en presencia de mis angustiadores; Unges mi cabeza con aceite; mi copa está rebosando. Ciertamente el bien y la misericordia me seguirán todos los días de mi vida, en la casa de Jehová moraré por largos días. SALMOS 23.

Mira que te mandó que te esfuerces y seas valiente; no temas ni desmayes, porque Jehová tu Dios estará contigo en dondequiera que vayas. JOSUÉ 1:9.

Alfonso Trujillo López (papa), agradezco enormemente por enseñarme principios y valores que siempre me han servido en mi diario caminar, recuerdo cuando era un niño recorriamos juntos las tierras con gran felicidad y fui creciendo y eso no cambió hasta que Dios decidió llevarte, cada que recorro los mismo lugares en donde andábamos juntos y me siento en las piedras que nos estábamos a platicar y mis lágrimas corren porque ya no estas físicamente pero en mi corazón aun vives y sé que nos veremos en la eternidad para gozarnos en la patria celestial, Te amo a 'pa ya no supiste en que universidad iba a estudiar pero ese era tu sueño y ahora lo estamos cumpliendo gracias a Dios.

Nohemí Hernández de León (mama), con sólo mencionar tu nombre se llena mi mente de infinitas palabras, como agradecerte mamá tantas cosas que has hecho por mí, recuerdo cuando era muy pequeño tus hermosas manos se desgastaban lavando ropa ajena para sacarnos adelante en la escuela, pero gracias mamá porque esas fuerzas no fueron en vano ahora están dando fruto, quiero compartir esta meta contigo porque has sido parte fundamental en esta formación. Te amo Mamí.

Beatriz Carmen Peña Delgado (Amor), Amor muchas gracias mi vida, porque siempre me has apoyado y has confiado en todo el potencial que tengo, gracias a Dios por permitirnos compartir cada momento tan especial y maravilloso juntos, me has hecho muy feliz corazón. Hemos empezado a formar nuestro futuro y en las manos de Dios lo lograremos, pero que felicidad, te amooooooooo.

Oralta Hernández Hidalgo (abuelita), gracias abuelita por ser parte fundamental en esta formación, por todas sus oraciones, pero sobre todo por enseñarme el camino de Cristo, cuando éramos pequeños nos instruyó y ahora los frutos se están cosechando, gracias por los hermosos momentos que compartimos y seguiremos compartiendo sino en esta vida en la venidera con el Señor. Te amo abuelita
Oralta.

Marbella, Lilitiana, Jorge, Huver, Agosto, Alfonso, Derly, Ale y Pablito, muchas gracias por brindarme siempre el apoyo necesario para que este sueño se esté haciendo realidad, por cada momento de convivencia que hemos tenido, siempre han demostrado su amor hacia mí persona, como agradecerles todo lo que han hecho por mí, los amo a todos.

Familia, a todos gracias por todos sus consejos y por confiar en mí en que podía lograr todo lo que me propusiera, esto aún empieza y gracias a todos por sus oraciones.

Misión Restauración, gracias a todos mis hermanos de la Misión, por hacerme sentir en casa y crecer juntos Espiritualmente, porque siempre han y serán una familia para mí, gracias por todo el amor y cariño que nos dedicaron y seguiremos adelante en el camino de Dios.

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), a mí Alma Mater gracias por recibirme y permitir formarme como profesionalista, por cada momento inolvidable que vivimos con los amigos, porque sin duda quedaras marcada en mi corazón y donde quiera que vaya siempre te llevare en alto como una gran universidad que eres.

Dr. Heliodoro de la Garza Toledo, sin duda un gran profesor y amigo, gracias por compartir sus conocimientos, por confiar en mí

para la realización de este trabajo, por la paciencia que me ha tenido, por su humildad y sencillez, que Dios me lo siga bendiciendo en gran manera y que siga siendo parte de la formación de muchos futuros profesionistas, siempre lo llevare en mi corazón, muchas gracias Doc.

M.C Xochitl Ruelas Chacón, gracias por todo su apoyo que me ha brindado en cada momento que necesito, es una gran persona de la cual he aprendido mucho, muchas gracias por acompañarme en este proceso y formar parte de ello, lo llevare en mi corazón, Dios me lo siga bendiciendo y dándole siempre esa pasión por servir.

Dr. Efraín Castro Narro, muchas gracias por aceptar formar parte de este equipo de trabajo y por confiar en mí, sin duda es una gran persona, siempre lo llevare en mi corazón, Dios me lo siga bendiciendo enormemente y que siga cumpliendo su propósito en su persona.

Ing. Guillermo López Muños, gracias por abrir las puertas de su empresa para realizar este proyecto, que si no fuera por su gran disponibilidad esto no hubiera sido posible, muchas gracias por ser una gran persona, Dios me lo bendiga, gracias Ing.

A todos los maestros que contribuyeron en mi formación, muchas gracias, Dr. Mario, Dra. Dolores, M.C Mildred, Lic. Laura, Dra. Lulú, M.C María, Dr. Armando, Dr. Antonio, M.C Sarahí y a todos

que aunque no los mencione los llevo en mi corazón, muchas gracias por su contribución y amistad que me brindaron.

DEDICATORIAS

Maravilloso Dios, gracias a ti he concluído esta nueva etapa de mi vida, me has dado sabiduría y fuerzas, te lo dedico Señor porque es una mínima parte de lo mucho que tú me das.

Va para ustedes hermosa familia:

*Alfonso Trujillo López
Nohemí Hernández de León
Marbella Trujillo Hernández
Liliana Trujillo Hernández
Jorge Valente Trujillo Hernández
Huver Trujillo Hernández
Cesa Agosto Trujillo Hernández
Alfonso Trujillo Hernández
Derly Trujillo Hernández
Lizeth Alejandra Gómez Hernández
Pablo Yudisel Trujillo Aguilar*

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Pan	4
2.1.1. Aporte nutrimental.....	4
2.1.2. Principales ingredientes	5
2.2. Tipos de panes.....	7
2.3. Características generales.....	9
2.4. Conservadores naturales en alimentos	10
2.4.1. Condiciones de uso.....	12
2.4.2. Mecanismo de acción.....	12
2.5. Ácido cítrico	13
2.5.1. Usos y producción.....	13
2.5.2. Obtención	13
2.6. Orégano	14
2.7. Ácido Acético	15
2.7.1. Historia	15
2.7.2. Propiedades del ácido acético.....	15
2.7.3. Producción	16
2.7.4. Economía.....	16
2.8. Conservadores sintéticos	17
2.9. Vida útil.....	18
3. METODOS Y MATERIALES	20

3.1. ETAPA I. Determinación de los tipos de microorganismos responsables del deterioro del pan tipo muffin utilizando un microscopio.....	20
3.2. ETAPA II. Determinación de la concentración adecuada de cada conservador natural no modificando el sabor.	21
3.3. ETAPA III. Análisis microbiológico.....	22
3.4. ETAPA IV. Análisis bromatológico.....	23
3.5. ETAPA V. Evaluación sensorial.....	26
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES	28
4.1. ETAPA I. Determinación de los tipos de microorganismos responsables del deterioro del pan tipo muffin utilizando un microscopio.....	28
4.2. ETAPA II. Determinación de la concentración adecuada de cada conservador natural no modificando el sabor.	30
4.3. ETAPA III. Análisis microbiológico.....	32
4.4. ETAPA IV. Análisis bromatológico.....	37
4.5. ETAPA V. Evaluación sensorial.....	38
5. CONCLUSIONES	40
6. PERSPECTIVAS	41
7. BIBLIOGRAFÍA.....	42

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Concentraciones de los conservadores en los diferentes tratamientos.	31
Cuadro 2. Resultados de la evaluación sensorial.....	31
Cuadro 3. Concentración de los tratamientos (T4, T7 y T11).....	37
Cuadro 4. Composición nutrimental del pan muffin (Valores expresados en gramos en porciones de 100 g).....	37
Cuadro 5. Respuestas de la evaluación sensorial.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Hoja de evaluación del pan tipo muffin.....	27
Figura 2. Comparación de levaduras vistas al microscopio.....	29
Figura 3. Panes tipo muffins.....	32
Figura 4. Gráfica de UFC/g contadas al T ₀	33
Figura 5. Gráfica de UFC/g contadas a las 24 hrs.....	34
Figura 6. Gráfica de UFC/g contadas a las 48 hrs.....	34
Figura 7. Gráfica de UFC/g contadas a las 72 hrs.....	35
Figura 8. Gráfica de UFC/g contadas a las 96 hrs.....	36

RESÚMEN

En la actualidad los productos horneados como el pan se consumen en casi todo el mundo, pero la demanda del mercado consumidor de estos productos va cambiando día a día, hoy se requieren alimentos lo más naturales posibles, así como también lo menos procesados.

Debido a esta gran demanda de los alimentos con ingredientes naturales, se realizó esta investigación sobre conservadores naturales en panes para prolongar la vida útil, siendo este uno de los factores principales que es ocasionado principalmente por microorganismos (hongos, levaduras y bacterias). Para ello se utilizó tres conservadores naturales; vinagre de manzana, ácido cítrico y aceite esencial de orégano, Para el vinagre de manzana se probaron las concentraciones de 1%, 3%, 4% y 5%; para el ácido cítrico 0.5%, 1%, 3% y 5%; para el aceite de orégano 0.05%, 0.075%, 0.1% y 0.15%, esto en base a la proporción de harina, de estas concentraciones se obtuvieron para cada conservador un porcentaje adecuado que no modifique principalmente el sabor de los panes, los cuales obtuvimos mediante una prueba sensorial con jueces semientrenados. Se obtuvieron los siguientes resultados: para vinagre de manzana 3%; para el ácido cítrico 0.5% y para el aceite de orégano 0.075%. Mediante un programa Minitab 16.1.0.0 con un diseño octogonal de Tauguchi arreglo L8, esto con el objetivo de hacer las respectivas sinergias entre los tratamientos, se experimentaron 10 tratamientos y un testigo (sin conservador) y se realizaron pruebas microbiológicas diariamente por 96 horas y se determinaron los mejores tratamientos, es decir, los que no presentaron crecimiento microbiano, posteriormente se realizó una prueba sensorial triangular, para evaluar el sabor principalmente, en base a los resultados se utilizó una prueba estadística Ji-cuadrada con un $\alpha = 0.05$ unilateral con la finalidad de ver si existen diferencias significativas entre los panes con conservadores y sin estos. Los mejores resultados fueron los siguientes tratamientos: vinagre de manzana 3%; para el ácido cítrico 0.5% y para el aceite de orégano 0.075%.

Palabras clave: Pan, conservadores naturales, vida útil.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Alargar la vida útil de panes tipo (muffin) mediante la adición de conservadores antimicrobianos naturales (aceite de orégano, vinagre de manzana y ácido cítrico).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar pruebas microbiológicas en el pan sin conservadores, para determinar que microorganismos crecen y en qué tiempo proliferan.
- Evaluar la eficiencia de los diferentes agentes antimicrobianos añadidos en diferentes concentraciones y el efecto sinérgico de los mismos.
- Realizar una evaluación sensorial de los panes con los mejores tratamientos mediante jueces consumidores de la (UAAAN), de cada uno de los tratamientos con conservadores naturales.
- Realizar un análisis Bromatológico Proximal del pan muffin, con la mezcla de aditivos que presento mejores resultados.

JUSTIFICACIÓN

La inocuidad de los alimentos se incrementa y garantiza con el uso de compuestos llamados antimicrobianos (Davidson, 1997), sin embargo, la demanda de los consumidores por adquirir compuestos más naturales y sin tantos conservadores químicos ha hecho que aumente la investigación y el uso de agentes antimicrobianos naturales. Dentro de estos, los más estudiados son los que se encuentran presentes en hierbas y especias, a partir de las cuales se pueden extraer aceites esenciales que poseen actividad antimicrobiana (Ultee *et al.*, 1998).

En relación a lo anterior nos damos cuenta de que en la actualidad hay una tendencia en consumir alimentos con ingredientes lo más naturales posibles, y sin conservadores sintéticos, así como también que estos puedan conservarse. Es por ello que utilizar conservadores naturales (vinagre de manzana, ácido cítrico y aceite de orégano), puede satisfacer las demandas del mercado actual, ya que estos conservadores alargan la vida útil de los panes presentando alto espectro de efectividad contra microorganismos, además estos no modifican las características organolépticas significativamente.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

El pan es un alimento que se consume desde tiempos muy remotos, actualmente, forma parte de la dieta tradicional de muchos hogares en casi todo el mundo, cada región le ha conferido características muy particulares (Salgado, 2012).

El pan ha estado unido a la evolución del hombre, siendo el punto de apoyo de su dieta, debido a su riqueza en principios nutritivos. Desde sus orígenes, que datan de hace miles de años, hasta nuestros días, el consumo de este alimento ha pasado por distintas etapas. Las primeras noticias que tenemos de este alimento se remontan a la época Neolítica, hace 7000 u 8000 años (Burgeois y Larpenier, 1995). Al principio era una pasta plana, no fermentada, elaborada con una masa de granos machacados groseramente y cocida, muy probablemente sobre piedras calientes.

Al parecer fue en Egipto donde apareció el primer pan fermentado, cuando se observó que la masa elaborada el día anterior producía burbujas de aire y aumentaba su volumen, y que, añadida a la masa de harina nueva, se obtenía un pan más ligero y de mayor tamaño. Existen bajorrelieves egipcios (3,000 años a. de J.C.) sobre la fabricación de pan y cerveza, que sugieren que fue la civilización egipcia donde se utilizaron por primera vez los métodos bioquímicos de elaboración de estos alimentos fermentados (Aleixandre, 1996).

A lo largo de la historia del hombre, el pan ha ocupado un papel importante en su alimentación, en muchos casos básico. En la actualidad el consumo de pan ha ido creciendo durante los siglos acompañado con el ritmo del crecimiento de la población mundial. El pan es el más popular entre todos los productos derivados de los cereales, no sólo por sus cualidades nutricionales, sino también por sus propiedades sensoriales y de textura (Poinot et al., 2008; Lambert *et al*, 2009).

Entre los alimentos básicos en la dieta de los mexicanos, los elaborados a partir de trigo ocupan un lugar de privilegio: semanalmente se consume prácticamente un kilo de pan dulce, de pan blanco y de tortilla de harina por persona. Son también usuales en el consumo semanal los pasteles, pan de caja, galletas y pastas (SIAP, 2012).

El envejecimiento del producto se suele manifestar por una serie de modificaciones fisicoquímicas (color, olor, sabor, etc.), que pueden ser debidas a reacciones entre algunos componentes químicos ocasionados por agentes de diversa naturaleza: la luz, enzimas, materiales de contacto, temperatura, etc. También puede ocurrir por algunas transformaciones debidas a la actividad metabólica de la proliferación microbiana. Estos factores desencadenan mecanismos de reacción que conlleva a la degradación de los alimentos (Bello, 2000).

En general, el pan es un producto que se deteriora rápidamente ya que presenta cambios en el sabor, pérdida de humedad de la miga y endurecimiento. Adicionalmente, los microorganismos pueden crecer en el pan, representando otro factor de deterioro decisivo en la vida útil de este alimento (Stanley *et al*, 2007; Ribotta y Tadini, 2009).

El método tradicional de prevención del crecimiento de microorganismos en el pan han sido la adición de antimicrobianos sintéticos en la formulación; sin embargo, desde hace algunas décadas se han estado implementando diversas técnicas y tecnologías diferentes ésta, debido a problemas de resistencia microbiana. Aunado a lo anterior, la creciente tendencia a la producción y consumo de los alimentos mínimamente procesados ha llevado a combinar ciertos factores de conservación para lograr una sinergia entre ellos y así obtener mayor estabilidad y calidad sensorial en el producto durante el almacenamiento (Salgado, 2012).

Debido a las características adecuadas de un pan el uso de un antimicrobiano debe de tomar en cuenta las siguientes características: poseer un amplio espectro de acción, no ser tóxico, ser efectivo a bajas concentraciones, no afectar la calidad sensorial de los productos (olor y sabor), poseer una buena solubilidad, conservar

su estabilidad en las condiciones de proceso y durante el almacenamiento, no intervenir en los procesos fermentativos y ser de bajo costo (Ribotta y Tadini, 2009).

Por otra parte para las empresas que producen pan es una alternativa para poder comercializar los productos con mayor vida útil, así como también reducir pérdidas económicas debido al deterioro por microorganismos que provocan la descomposición de los panes y son conservadores naturales que lo encontramos en cualquier tienda comercial y a bajo precio.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Pan

Se designa con el nombre de pan al “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 de microorganismos propias de la fermentación panaria como *Saccharomyces Cerevisiae*.”. Cuando se emplean harinas de otros cereales, el pan se designa con el apelativo correspondiente a la clase de cereal que se utilice; por ejemplo; pan de centeno, de maíz, etc., (Ávila *et al*, 2,007).

El pan es considerado como el más universal de todos los productos horneados y ha sido tan importante en la alimentación humana que se considera como sinónimo de alimento básico en muchas culturas, entre ellas la Europea, Oriental, India y Americana (Lucas, 2009). Este es un producto de gran técnica en su elaboración y puede incorporar una amplia variedad de componentes tales como harina, agua, levadura, sal, azúcar, grasa, leche, huevo, emulsificantes, mejoradores e hidrocoloides, entre otros. Un buen pan debe tener una corteza crujiente, de miga color blanco, de olor apetitoso y con buena conservación; las materias primas que se utilizan tienen una gran influencia en las variaciones de estas características (Clavel, 2001).

2.1.1. Aporte nutrimental

El pan forma parte del grupo de alimentos que han constituido la base de alimentación de todas las civilizaciones debido a sus características nutritivas, su moderado precio y a la sencillez de la utilización culinaria de su materia prima, los cereales. (Martín *et al*, 2007).

El pan es rico en hidratos de carbono complejos, siendo su componente más abundante el almidón, aporta buena cantidad de proteínas de origen vegetal, y

apenas contiene grasa. Es una buena fuente de vitaminas del grupo B y de minerales como el fósforo, el potasio y el magnesio. Debido a todas estas propiedades nutritivas, los expertos en Nutrición definen el pan como un “ingrediente” inamovible de la base de la pirámide nutricional, ya que debe constituir también la base de la alimentación, cosa que, por otro lado, ha sucedido a lo largo de la evolución de la especie humana en la mayoría de las culturas. (Incerhpan, 2007).

2.1.2. Principales ingredientes

Harina

La denominación harina, sin otro calificativo, designa exclusivamente el producto obtenido de la molienda del endospermo del grano de trigo limpio.

Las propiedades que poseen las proteínas del trigo y que (salvo raras excepciones como el centeno) no poseen las proteínas de otros cereales, es la que hace panificables las harinas de trigo y la que proporciona las características plásticas de la masa de pan (Calvel, 1983; Eliasson y Larsson, 1993; Calaveras, 1996).

Agua

Es el segundo componente mayoritario de la masa y es el que hace posible el amasado de la harina. El agua hidrata la harina facilitando la formación de la masa, con ello y con el trabajo mecánico del amasado se le confieren a la masa sus características plásticas: la cohesión, la elasticidad, la plasticidad y la tenacidad o nervio (Calvel, 1983). La presencia de agua en la masa también es necesaria para el desarrollo de las levaduras que han de llevar a cabo la fermentación del pan.

Sal

Su objetivo principal es dar sabor al pan (Calvel, 1994). Además 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 (Calvel, 1983).

Levadura

En panadería se llama levadura al componente microbiano aportado a la masa con el fin de hacerla fermentar de modo que se produzca etanol y CO₂. Este CO₂ queda atrapado en la masa la cual se esponja y aumenta de volumen. A este fenómeno se le denomina levantamiento de la masa (Humanes, 1994; Tejero, 1992-1995; Guinet y Godon, 1996). Los microorganismos presentes en la masa son principalmente levaduras que son las responsables de la fermentación alcohólica, pero también se pueden encontrar bacterias que actúan durante la fermentación dando productos secundarios que va a conferir el pan determinadas características organolépticas, en concreto una cierta acidez.

Otros

Pueden ser simples aditivos o coadyuvantes tecnológicos que se emplean en baja proporción y cuyo único objetivo es favorecer el proceso tecnológico de elaboración del pan. En este caso se les denomina mejorantes y su empleo no significa que el pan elaborado sea un pan especial. Entre los más comunes: harina de habas, harina de malta, leche en polvo, ácido ascórbico, enzimas, etc., (Calvel, 1983; Tejero, 1992-1995; Miralbés, 2000).

Hay otros ingredientes que el objetivo es aumentar el valor nutritivo del pan o bien proporcionarle un determinado sabor. Su empleo da siempre panes especiales. Entre los más comunes: azúcares, leche, materias grasas, huevos, frutas, etc. (Tejero, 1992-1995).

2.2. Tipos de panes

El Código Alimentario Español diferencia dos tipos de pan.

Pan común, se define como el de consumo habitual en el día, elaborado con harina de trigo, sal, levadura y agua, al que se le pueden añadir ciertos coadyuvantes tecnológicos y aditivos autorizados. Dentro de este tipo de incluyen:

- Pan bregado, de harina dura, español o candeal, es el elaborado con cilindros refinadores.
- Pan de flama o de miga blanda, es el obtenido con una mayor proporción de agua que el pan bregado y normalmente no necesita del uso de cilindros refinadores en su elaboración.

Pan especial, es aquel que, por su composición, por incorporar algún aditivo o coadyuvante especial, por el tipo de harina, por otros ingredientes especiales (leche, huevos, grasas, cacao, etc.), por no llevar sal, por no haber sido fermentado, o por cualquier otra circunstancia autorizada, no corresponde a la definición básica de pan común. Como ejemplos de pan especial tenemos:

- Pan integral, es aquel en cuya elaboración se utiliza harina integral, es decir, la obtenida por trituración del grano completo, sin separar ninguna parte del mismo.
- Pan de Viena o pan francés, es el pan de flama que entre sus ingredientes incluye azúcares, leche o ambos a la vez.
- Pan de molde o americano, es el pan de corteza blanda en cuya cocción se emplea moldes.
- Pan de cereales, es elaborado con harina de trigo más otra harina en proporción no inferior al 51%. Recibe el nombre de este último cereal. Ejemplo: pan de centeno, pan de maíz, etc.
- Pan de huevo, pan de leche, pan de miel y pan de pasas, etc., son panes especiales a los que se añaden algún de estas materias primas, recibiendo su nombre de la materia prima añadida.

La NOM-F-516-1,992, clasifica los productos de panificación de acuerdo a su composición.

TIPO I: Pan Blanco, Bolillo y Telera.

Son productos alimenticios cocidos por horneado de la masa fermentada, elaborada con harina de trigo, agua potable, sal yodatada, azúcar, levadura, ingredientes opcionales y aditivos alimentarios permitidos por la Secretaría de Salud.

TIPO I I: Pan de Harinas Integrales.

Son los productos alimenticios cocidos por horneado de la masa fermentada, preparados con harina de cereales y/o leguminosas y otro cereal o harina tal como avena, harina integral de centeno, harina de trigo integral, etc.; agua potable, sal yodatada, azúcares, grasas comestibles, levadura, ingredientes y aditivos alimentarios opcionales permitidos por la Secretaría de Salud.

- Pan de Centeno: Es el producto alimenticio cocido por horneado de la masa fermentada, preparado con harina de centeno, harina integral de centeno, agua potable, sal yodatada, azúcares, grasas comestibles, levadura, ingredientes y aditivos alimentarios opcionales permitidos por la Secretaría de Salud.

TIPO I I I: Pan, Productos de Bollería.

Son los productos cocidos por horneado de la masa fermentada, preparados con harina de trigo, agua potable, sal yodatada, azúcares, grasas comestibles, levadura, ingredientes y aditivos alimentarios opcionales permitidos por la Secretaría de Salud.

TIPO I V: Pan Dulce.

Es el producto elaborado con harina en cualquier de sus tipos, azúcares, agua potable, sal yodatada, adicionada o no de grasas y/o aceites comestibles, con o sin levadura o leudante químico, ingredientes opcionales y aditivos alimentarios permitidos por la Secretaría de Salud.

2.3. Características generales

Los procesos industriales de panificación son altamente mecanizados y requieren de un estricto control de calidad de la harina de trigo, ya que la misma afecta variables procesos y calidad de productos terminados. Para la manufactura de pan se siguen los siguientes pasos básicos: mezcla de ingredientes, amasado, fermentación, prensado, desgasado, formado, fermentación final y horneado. La calidad de la harina afecta principalmente la absorción de agua y tiempo óptimo del gluten (Serna, 2003).

El proceso de fermentación empieza una vez que la levadura y la harina se hidratan en presencia del sustrato (azúcares fermentables) y condiciones de temperatura adecuadas, esta operación se lleva a cabo bajo un estricto control de temperatura y humedad relativa (HR), el horneado de una masa se considera como un medio para apreciar el valor de la panificación de la harina. La naturaleza biológica o características de la harina, la levadura y las acciones amasadoras constituyen factores que de manera definitiva influyen en las características del producto terminado. Se reconoce que ciertos elementos de apreciación en el pan resultan muy importantes desde el punto de vista comercial, como son el aspecto general (volumen, suavidad, color), el color y textura de la costra, color y textura interna de la miga y propiedades organolépticas del producto (Serna, 2003).

La industria de la panificación está interesada en determinar mediante ensayos las condiciones de cocimiento y las reglas que les permitan obtener una fabricación irreprochable unida a un rendimiento satisfactorio. Los trigos fuertes que tienen alto contenido de proteína tienen la facultad de producir harina para panificación que producen piezas de gran volumen con buena textura de la miga y buenas propiedades de conservación. Los trigos suaves que tienen bajo contenido de proteínas producen harinas para panificación que rinden panes pequeños con miga densa y abierta. Estas harinas son utilizadas para galletas y pasteles, no resultan adecuadas para panificación a menos que se mezclen con harinas más fuertes o con ingredientes mejorados como agentes oxidantes y gluten vital (Serna, 2003).

La manufactura industrial de pan de mesa por lo general se realiza siguiendo alguno de los siguientes procesos: panificación directa, proceso esponja, esponja líquida o método continuo. Las formulaciones son distintas para cada proceso, además de los requerimientos de la calidad de la harina, mano de obra y propiedades del producto terminado. Indudablemente, el proceso tipo esponja se llama así debido a que parte de la harina (60%) se mezcla con casi toda el agua y la levadura que la formulación requiere. Después de un tiempo de fermentación (5-8 horas) la masa luce similar a una esponja, esta se amasa posteriormente junto con refresco (resto de harina e ingredientes) para producir una masa que sufre el proceso normal de panificación. El proceso esponja presenta ventaja tales como menor tiempo de amasado, demora menos tiempo la manufactura del pan en planta y en especial que produce panes con mejor sabor y textura (Serna, 2003).

2.4. Conservadores naturales en alimentos

El uso de antimicrobianos (conservadores) es una práctica común en la industria de los alimentos, por muchos años se han utilizado antimicrobianos sintetizados químicamente (que en algunos casos han causado daño en la salud de los consumidores, si se utilizan grandes dosis o como en caso de los sulfitos), redundando en un rechazo por parte de los consumidores de productos procesados, por lo cual ha surgido la necesidad de buscar otras opciones. En esta búsqueda se han encontrado nuevos agentes antimicrobianos de origen natural, como sustitutos de los tradicionalmente utilizados (Nychas, 1995).

Algunos antimicrobianos naturales se obtienen principalmente de hierbas, plantas, y especias. Lo más difícil es extraer, purificar, estabilizar e incorporar dicho antimicrobiano al alimento sin afectar su calidad sensorial y seguridad (Beuchat y Golden, 1989).

La actividad antimicrobiana de hierbas y plantas es generalmente atribuida a los compuestos fenólicos presentes en sus extractos o aceites esenciales, y se ha

observado que la grasa, proteína, concentración de sal, pH y temperatura afectan la actividad antimicrobiana de estos compuestos (Nychas, 1995).

Recientemente ha vuelto a surgir interés en la conservación “natural” de alimentos a partir de la tendencia hacia el consumo y producción de los alimentos mínimamente procesados (AMP). Los sistemas antimicrobianos naturales presentes en plantas, animales o microorganismos van ganando adeptos en el ámbito de la “conservación natural”, sobre todo de las actividades antimicrobiana procedente de extractos de varios tipos de plantas y partes de plantas que se usan como agentes saborizantes en algunos alimentos (Rodríguez, 2011). Existen diversos productos de origen botánico los cuales poseen una actividad antimicrobiana como el ajo, orégano, mostaza, canela, albahaca, tomillo, pimienta, mejorana, chile, achiote, cebolla, cilantro, té, limón y naranja.

La mayor parte de los antimicrobianos alimentarios solamente son bacteriostáticos (sistemas de conservación que impiden el desarrollo de gérmenes) o fungistáticos, en lugar de bactericidas (sistemas de conservación que destruyen los gérmenes) o fungicidas, por lo que su efectividad sobre los alimentos es limitada. Por otra parte, debido a que algunos microorganismos pueden no verse inhibidos o destruidos por las dosis convencionales de antimicrobianos utilizados individualmente, puede ser preferible utilizar una combinación de ellos, ampliando así el espectro de cobertura en la preservación de frutas o alimentos en general (Blanchard, 2000).

Con la evolución de la ciencia de alimentos han surgido muchos compuestos químicos con actividad antimicrobiana, pero también se va estudiando sobre los daños a la salud que estos pudieran ocasionar.

Muchas frutas contienen diferentes ácidos orgánicos, como el ácido benzoico o el ácido cítrico. Los ajos, cebollas y muchas especias contienen potentes agentes antimicrobianos, o precursores que se transforman en ellos al triturarlos (Matamoros, 1998).

2.4.1. Condiciones de uso

Las condiciones de uso de los conservantes están reglamentadas estrictamente en todos los países del mundo. Usualmente existen límites a la cantidad que se puede añadir de un conservante y a la de conservante totales. Los conservantes alimentarios, a las concentraciones autorizadas, no matan en general a los microorganismos, sino que solamente evitan su proliferación. Por lo tanto, solo son útiles con materias primas de buena calidad (Alvarez-Parrilla, 2005).

2.4.2. Mecanismo de acción

Existen pocos estudios enfocados a comprender el mecanismo involucrado en la inhibición microbiana por especias y sus aceites esenciales. Sin embargo, se supone que dada la estructura fenólica de muchos de los compuestos con actividad antimicrobiana presentes en las especias y sus aceites esenciales, el modo de acción debe ser similar al de otros compuestos fenólicos (Davidson, 1997).

Los aceites y extractos de plantas, principalmente de clavo, orégano, tomillo y algunos otros, presentan actividad inhibitoria contra ciertos microorganismos de importancia en alimentos (Holley y Patel, 2005). Considerando el gran número de diferentes grupos de compuestos químicos presentes en los aceites esenciales, es importante decir que su actividad antimicrobiana no se atribuye a un mecanismo específico; sin embargo, existen algunos sitios de acción en la célula en donde pueden ocurrir los siguientes efectos: daño a la membrana citoplasmática, degradación de la pared celular, daño a las proteínas, filtración del contenido celular, coagulación del citoplasma y disminución de la fuerza motriz (Skandamis y Nychas, 2001).

En muchos casos los antimicrobianos pueden no tener ningún efecto hasta que se rebasa una concentración crítica (Juven *et al*, 1994).

2.5. Ácido cítrico

2.5.1. Usos y producción

El ácido cítrico es ampliamente utilizado en la industria de alimentos, bebidas, química y farmacéutica, entre otras. Es empleado como agente acidificante y resaltador de sabor, como antioxidante para prevenir la rancidez de grasas y aceites, como amortiguador en mermeladas, y como estabilizante en gran variedad de alimentos. La industria farmacéutica emplea alrededor del 16% de la producción de este ácido. Se estima que su producción anual es de 400.000 ton para un mercado de cerca de 1.400 millones de dólares por año. Su consumo se está incrementando por lo que se continúa investigando en la implementación de nuevos procesos tecnológicos más rentables y ecológicamente limpios (Demain, 2000).

2.5.2. Obtención

La obtención industrial de ácido cítrico se lleva a cabo empleando el hongo *Aspergillus niger* en medios ricos en carbohidratos como las melazas de caña y de remolacha. También se utiliza sacarosa, almidón de papa, hidrolizados de almidón y jarabes de glucosa (Vorob´eva, 1998). Se ha explorado la posibilidad de emplear levaduras para la producción de ácido cítrico en procesos por lotes (Kubicek y Röhr, 1986; Moresi, 1,994; Kim y Roberts, 1991) y continuos (Klasson *et al*, 1989).

Uno de los microorganismos que tiene la capacidad de sintetizar ácido cítrico es el *Aspergillus carbonarius* según lo reportan diferentes bancos de cepas (NRRL, ATCC, CABI, DSMZ, entre otros). Este hongo recientemente ha sido investigado en la obtención de productos de aplicación industrial como poligalacturonasas (Devi y Rao, 1996) y fitasa (Al-Asheh y Duvnjak, 1995), aunque son muy pocos los trabajos publicados.

2.6. Orégano

Existen múltiples estudios sobre la actividad antimicrobiana de los extractos de diferentes tipos de orégano. Se han encontrado que los aceites esenciales de las especies del género *Origanum* presentan actividad contra bacterias gram negativas como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersenia enterocolitica* y *Enterobacter cloacae*; y las gram positivas como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus subtilis* (Aligiannis, 2001). Tienen además capacidad antifúngica contra *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *Torulopsis glabrata*, *Aspergillus Niger*, *Geotrichum* y *Rhodotorula*; pero no contra *Pseudomona aeruginosa*. Se ha evaluado la actividad antimicrobiana de los componentes aislados, así como el del aceite esencial. Los fenoles carvacrol y timol poseen los niveles más altos de actividad contra microorganismos gram negativos, excepto para *P. aeruginosa*, siendo el timol más activo. Otros compuestos, como el g-terpineno y r-cimeno no mostraron actividad contra las bacterias estudiadas. Los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para los aceites esenciales de han establecido entre 0.28-1.27 mg/mL para bacterias, y de 0.65-1.27 mg/mL para hongos (Aligiannis, 2001).

En el caso de *E. coli* O157:H7 existe una relación concentración/efecto a 625 ml/L con actividad bactericida después de 1 minuto de exposición al aceite, mientras que después de 5 minutos se requieren 156 y 312 ml/L. dicha acción antimicrobiana posiblemente se debe al efecto sobre los fosfolípidos de la capa externa de la membrana celular bacteriana, provocando cambios en la composición de los ácidos grasos. Se ha informado que las células que crecen en concentraciones subletales de carvacrol, sintetizan dos fosfolípidos adicionales y omiten uno de los fosfolípidos originales (Burt, 2003).

2.7. Ácido Acético

2.7.1. Historia

El ácido acético diluido y como producto alimenticio, llamado vinagre, es conocido por el hombre desde hace ya muchísimos años. En el año 1,648 *Glauber* demostró que podía obtenerse ácido acético por calentamiento de la madera en ausencia de aire y, desde que *E. Stahl* en el año 1702 describió la descomposición de los acetatos con ácido sulfúrico concentrado, pudo obtenerse de este modo un ácido acético concentrado. Su composición fue establecida en el año 1814 por *Berzelius*.

El ácido concentrado no alcanzó significación técnica importante hasta que *N. Grünstein* y las Farbwerken Hoechst lograron en 1911-1913 obtener el ácido acético a partir del acetileno y a través del acetaldehído, que era oxidado. Este procedimiento se empleaba técnicamente ya en el año 1917 (Ludwig, 1987).

El ácido acético, en su forma de vinagre, que es esencialmente una disolución de este ácido en agua, más los aromas procedentes del vino y los formados en la acidificación, se utiliza como conservante al menos desde hace 5.000 años. Una gran parte del utilizado actualmente se obtiene por síntesis química. Como conservante es relativamente poco eficaz, con excepción de una aplicación específica en panadería y repostería. También es eficaz con algunos mohos.

2.7.2. Propiedades del ácido acético

El ácido acético es un líquido incoloro como el agua, con olor penetrante y que irrita la piel. A 16,75 °C se solidifica, adquiriendo un aspecto similar al del hielo, por lo que el ácido acético anhidro puro se llama también *acético glacial*. Toda vez que no aumenta de volumen al solidificarse, puede guardarse en recipientes que hayan de soportar bajas temperaturas (Ludwig, 1987).

El ácido acético hierve a 118,1 °C. Su densidad a 15 °C es 1,0553.

El anhídrido acético es también un líquido incoloro, de olor muy penetrante, que provoca inmediatamente el lagrimeo y origina ampollas sobre la piel. Su punto de ebullición es de 136 °C. Es difícilmente soluble en el agua, pero reacciona con ella después de algún tiempo y da lugar al ácido acético (Ludwig, 1987).

2.7.3. Producción

Es producido por síntesis y por fermentación bacteriana. Hoy en día, la ruta biológica proporciona cerca del 10% de la producción mundial, pero sigue siendo importante en la producción de vinagre, dado que las leyes mundiales de pureza de alimentos estipulan que el vinagre para uso en alimentos debe ser de origen biológico. Cerca del 75% del ácido acético hecho en la industria química es preparada por carbonilación del metanol. Los métodos alternativos aportan el resto (Yoneda, 2001).

2.7.4. Economía

Una gran parte del ácido acético se emplea en las industrias alimenticias, en forma de “esencia de vinagre”, que es un ácido acético del 80%, que se vende en frascos especiales y se diluye antes de su uso, por ejemplo, para conservar frutos, pescados, etc. Además, el ácido acético se emplea en un gran número de síntesis orgánicas, como en la obtención de la aspirina, de colorantes, del ácido cloroacético, etc. (Ludwig, 1987).

El anhídrido acético también se emplea en las industrias de colorantes y medicamentos, pero sobre todo en la obtención de la acetilcelulosa, en la que se consumen grandes cantidades (Ludwig, 1987).

2.8. Conservadores sintéticos

Algunos antimicrobianos sintetizados químicamente reconocidos como GRAS (*Generally Recognized as Safe*) por la FDA (*Food and Drug Administration*) son: ácido propiónico y propionatos, ácido sórbico y sorbatos, ácido benzoico y benzoatos, parabenos, sulfitos, óxido de etileno y propileno, diacetato de sodio, nisina y nitrito de sodio, entre otros (Jay, 2002).

Los propionatos son los más adecuados en panificación debido a que su actividad sobre las levaduras es mínima, permitiendo así una buena fermentación de la masa; específicamente, ellos inhiben el crecimiento de bacterias y mohos. De los propionatos, destacan dos tipos: el propionato de sodio y el propionato de calcio; ambos tienen la misma actividad, sin embargo, cuando en la formulación también hay carbonatos o bicarbonatos, se recomienda la utilización del propionato de sodio, ya que el propionato de calcio interfiere con la producción de dióxido de carbono. La concentración permitida es de 0.3% dentro de la formulación (Badui, 2006; Stanley *et al*, 2007).

Respecto al ácido sórbico, este no solo inhibe la actividad de los mohos, sino que también la de las levaduras, por lo tanto, no debe añadirse a la masa. Su adición se realiza una vez que el pan ha sido horneado por aspersión sobre la superficie del producto. Otro inconveniente es que no resulta efectivo para inhibir el desarrollo de mohos en productos porosos o con superficies irregulares, la cantidad permitida en una formulación de pan es del 1 al 6% en solución acuosa (asperjando en la superficie inmediatamente después del horneado). Se debe de considerar que la actividad antimicrobiana del ácido sórbico aumenta a medida que disminuye el pH (Ribotta y Tadini, 2009).

Los parabenos son ésteres alquílicos del ácido p-hidroxibenzoico, sus formas más comunes son metil y propilparabenos. Son menos utilizados en la industria de la panificación debido a que son más efectivos contra mohos y levaduras que contra bacterias. Se usan en concentraciones de 0.01 a 0.1 g/100g (Chung *et al*, 2001)

2.9. Vida útil

La vida media, vida de anaquel o vida útil de un alimento se define como el periodo de tiempo durante el cual resulta deseable el consumo de un producto alimenticio elaborado bajo ciertas condiciones, conservando sus características químicas, físicas, microbiológicas, funcionales y sensoriales. Se expresa en este término el tiempo que tarda la calidad de un alimento en alcanzar niveles considerados inaceptables para su consumo. El tiempo de duración se vincula con el estado físico del producto, su composición química, condiciones utilizadas en el proceso, su acondicionamiento y la tecnología de conservación aplicada para su almacenamiento (Bello, 2000; Man, 2004).

Los cambios a nivel microbiológico, sensorial y/o físico-químico que ocurren en el producto hacen que el alimento llegue al final de su vida útil, la cual se define como el tiempo transcurrido entre la fabricación y el momento en que se presentan cambios significativos en él, que puedan generar rechazo en el consumidor final. Puede variar según el proceso de producción, la naturaleza del producto y el tiempo de almacenamiento (Bolumen, 2005; Labuza, 2000).

Por ello es importante identificar los factores específicos que afectan la vida útil y evaluar sus efectos individualmente y en combinación. La vida útil de un alimento depende de cuatro factores principales; conocer la formulación, el procesado, el empaclado y las condiciones de almacenamiento. Estos cuatro factores son críticos pero su relativa importancia depende de la peresibilidad del alimento (Labuza, 1999). Estos se pueden dividir en: a) factores intrínsecos: materia prima (composición, estructura, naturaleza), actividad de agua, pH, acidez, disponibilidad de oxígeno y potencial Redox (Eh); y b) factores extrínsecos: procesamiento, higiene y manipulación, materiales y sistemas de empaque, almacenamiento, distribución y lugares de venta (Man, 2004).

Por esta razón el productor debe tener un conocimiento de estos factores así como de las maneras críticas de falla del alimento. Con esta información, el productor puede entonces elegir los mejores sistemas para maximizar la vida de almacén.

Poner sobre el producto una fecha abierta que indique la vida de alta calidad del producto (Labuza, 1999). Pues La determinación oportuna y objetiva de la "vida útil" de los productos le permitirá a los empresarios evitar pérdidas por devolución, ampliar su mercado nacional y de exportación, pero sobre todo ampliando la confianza del consumidor.

3. METODOS Y MATERIALES

3.1. ETAPA I: Determinación de los tipos de microorganismos responsables del deterioro del pan tipo muffin utilizando un microscopio.

Mediante una amplia revisión de literatura para saber que microorganismos podrían causar el deterioro de los panes, se encontró como resultado que esto es muy variado, ya que depende de los tipos de materias primas que se utilicen y del tipo de flora silvestre o bien la contaminación en el proceso de elaboración, debido a que es un pan que contiene frutas como; piña, zanahoria y nuez, no hay literatura específica, por lo tanto optamos por hacer dos tipos de siembras microbiológicas, se preparó Agar nutritivo para las bacterias y Agar Papa Dextrosa (PDA) para hongos y levaduras, posteriormente se vertió cada agar en cajas Petri.

Se elaboraron los panes y se pesó un gramo de muestra representativa del pan en una balanza analítica (Ohaus Pioner) y se vertió en 9 mL de agua destilada, lo cual representa una dilución de 10^{-1} , se homogenizó bien la muestra y se hicieron dos diluciones más, quedando como 10^{-3} , posteriormente se tomó 0.5 mL de la última dilución y se sembró por triplicado en PDA y Agar Nutritivo, se sellaron las cajas y se encubaron a 30°C durante 72 hrs.

Este proceso se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos (DCTA) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Expresión de Resultados

Los resultados se expresaron por comparación de imágenes, las citadas en literatura y las obtenidas de la observación a través del microscopio.

3.2. ETAPA II: Determinar la concentración adecuada de cada conservador natural (*Ácido Cítrico, vinagre de manzana y Aceite de Orégano*) no modificando el sabor.

Para esta etapa se probaron diferentes porcentajes de conservadores, cabe señalar que todos los porcentajes dados son en base a la cantidad de harina con que se elabora el pan. Para la elaboración de los muffins se utilizaron 50 g de azúcar, 50 g de harina, 50 mL de aceite, 40 mL de huevo, 1.5 g de Rexal marca comercial y 35 mL de leche.

Para el vinagre de manzana se probó las concentraciones de 1%, 3%, 4% y 5%; para el ácido cítrico 0.5%, 1%, 3% y 5%; para el aceite de orégano 0.05%, 0.075%, 0.1% y 0.15%.

Después de la elaboración de los panes, se realizó una prueba sensorial con 5 panelistas semientrenados (se llevó a cabo con 5 panelistas únicamente, para determinar concentraciones máximas aceptables).

Posteriormente de los mejores resultados se determinó un límite inferior y límite superior de cada porcentaje y se metieron a un programa Minitab 16.1.0.0 mediante un diseño ortogonal de Taguchi con un arreglo L8, esto con el objetivo de hacer las respectivas sinergias entre los tratamientos.

3.3. ETAPA III: Análisis microbiológicos de los panes (muffins) con la adición de conservadores naturales (*Ácido Cítrico, vinagre de manzana y Aceite de Orégano*).

Para esta etapa se elaboraron los panes (muffins) con sus respectivos tratamientos, cabe mencionar que todos los panes se elaboraron con la misma formulación y un testigo que este no se le adicione ningún conservador, la formulación no se publican por políticas de privacidad de la empresa. Estos panes se elaboraron en la panadería “Tres Espigas” S.A de C.V ubicada en Saltillo, Coahuila.

Posteriormente se realizaron pruebas microbiológicas durante 96 horas cada 24 horas , para este proceso se tomó un gramo de muestra representativa del pan y se diluyo en 9mL de agua (H₂O) destilada quedando una dilución de 10⁻¹, se agito con un bortex (marca Whirlimixer) para una mejor homogenización de la muestra, luego se tomó 1 mL de la dilución 10⁻¹ y se pasó a otro tubo con 9 mL quedando una dilución de 10⁻², se agito hasta asegurarse que la muestra se haya homogenizado bien y se volvió a tomar 1 mL de la dilución 10⁻² y se pasó a otro tubo con 9 mL quedando una dilución de 10⁻³, de esta dilución se tomó 0.5 mL y se vertió en cajas Petri con PDA por duplicado, esto es para hongos y levaduras, se distribuyó la muestra en la caja Petri y se incubo (incubadora orbital INO-650V-7) a 30°C durante tres días, posteriormente se realizó el conteo de colonias en un cuenta colonias (marca Scientific).

Cabe señalar que todo el material utilizado se esterilizo previo a ser usado para evitar cualquier contaminación y por ende alterar el resultado, todo el proceso se realizó en una campana con aire estéril de flujo laminar vertical.

Este proceso se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos (DCTA) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) ubicada con sede en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Para la expresión de resultados, se contabilizaron las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en cada caja Petri y se multiplicaron con el factor de dilución.

UFC/g= (No. De colonias *factor de dilución)/mL sembrados

3.4. ETAPA IV. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

Se realizó el análisis bromatológico proximal del pan muffin, se determinó; grasa, proteína, hidratos de carbono, minerales, humedad, fibra y contenido energético. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

La evaluación se realizó en el laboratorio de Nutrición del Departamento de Nutrición y Alimentos en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Determinación de materia seca total y humedad

En esta determinación se utilizaron crisoles de porcelana puestos a peso constante en la estufa (Marca Thelco, modelo 27) a temperaturas de 100-103 °C, los crisoles fueron colocados por 12 horas con el fin de mantenerlos a peso constante, se toman los crisoles necesarios, se colocan en un desecador por un periodo de 15-20 minutos hasta peso constante, posteriormente se pasan a una balanza analítica (Marca AND serie 12310970) y se registró el peso. En seguida se le agregaron 2 gramos de muestra y se metieron a la estufa por 24 horas, por último se pesó el crisol con muestra y se calculó lo siguiente:

$$\% \text{ Materia seca total} = \frac{\text{Peso de crisol con muestra} - \text{peso del crisol solo}}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ Humedad} = 100 - \text{MST}$$

Determinación de proteína cruda método de Micro kjeldhal

En esta determinación se pesaron 0.05 g de muestra envuelta en papel de celulosa, en seguida se pasó a un matraz Kjeldhal de 100 mL, se agregaron 2 perlas de vidrio

esto con el objetivo de mantener la ebullición constante, se colocó 4 mL de mezcla digestora y se conectó al aparato Kjeldhal hasta digerir a color cristalino.

Posteriormente se llevó a cabo el método de destilación en el equipo Rapid Destillation Unit Labconco, se enjuago con 1 mL de agua destilada y el resultado de la digestión se vació a la copa del equipo de destilación, se enjuago con poca agua y se cerró la llave, se le adicione NaOH al 50 % hasta la mitad del nivel de la copita, se recibió 80 mL del destilado en un vaso con 30 mL de ácido bórico al 2.2 % y 5 gotas de indicador mixto ,se tituló con ácido sulfúrico al 0.025 N, por último se calcularon las operaciones correspondientes.

Nota: Por lo general se utiliza el factor 6.35, mientras que para este caso se utilizó el factor 5.7

$$\% \text{ Proteína} = \frac{(\text{mL gastados H}_2\text{SO}_4)(0.014)}{\text{Gramos de muestra}} \times 100 \times 5.7$$

Determinación de extracto etéreo (Método Soxhlet)

Para esta determinación se colocaron a una estufa matraces bola fondo plano con tres perlas de vidrio por un periodo de 12 horas, transcurrido el tiempo se sacaron de la estufa y se colocaron en un desecador de 15-20 minutos hasta peso constante ,se pesaron 5 gramos de muestra en un papel filtro, se colocaron en un cartucho de celulosa, se identificó el cartucho .Posteriormente se agregó 250 mL de éter etílico a los matraces bola ,el cartucho se colocó en el sifón Soxhlet y estos se conectaron al matraz bola y al refrigerante, después se realizó la extracción por 8 horas para desengrasar, transcurrido el tiempo se retiró el cartucho con pinzas y se recupera el solvente excedente .Se retiraron los matraces bola y se colocaron en la estufa durante 12 horas, esto con el objetivo de evaporar el solvente y humedad, finalmente se enfriaron el desecador por 15-20 minutos.

$$\% \text{ Extracto etéreo} = \frac{\text{Peso del matraz con grasa} - \text{peso del matraz solo}}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

Determinación de fibra cruda

Para esta determinación se pesaron 2 gramos de muestra desengrasada, se pasó a un vaso Bercellius, y se agregó 100 mL de ácido sulfúrico N=0.255, el vaso se colocó en el digestor (Marca Labconco serie 54781), después se abrió el sistema de enfriamiento, se encendió la parrilla y se calentó a una temperatura de 80-90°C hasta que la muestra empezó a hervir, se contó 30 minutos, enseguida se sacó la muestra y se filtró en tela de lino el cual se colocó sobre un embudo, se lavó con 3 porciones de agua hervida destilada de 150 mL hasta quitar la reacción acida. Después se pasó a la muestra que queda en la tela al vaso Bercellius, nuevamente se agrega 100 mL de hidróxido de sodio N=0.313 por 30 minutos, se retira la muestra, se filtra y lava con agua caliente con 3 porciones de 150 mL hasta quitar la reacción alcalina, se retiró la fibra y se pasa a un crisol de porcelana con ayuda de un espátula. El crisol con la fibra se pasó a la estufa por 12 horas, se retira el crisol transcurrido el tiempo, se enfría, se pesa después se lleva a preincinerar y se metió a la mufla a una temperatura de 600 °C por 3 horas, se sacó y se colocó en un desecador por 30 minutos y por último se pesó.

$$\% \text{Fibra cruda} = \frac{\text{Peso del crisol con fibra seca} - \text{peso del crisol con fibra cenizas}}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

Determinación de carbohidratos

Para esto se determinó a través de una diferencia, esta diferencia es la que existe entre el peso original de la muestra y la suma de pesos del agua, extracto etéreo, proteína, fibra y cenizas.

$$100 - (\% \text{proteína} + \% \text{humedad} + \% \text{extracto etéreo} + \% \text{cenizas} + \% \text{fibra}) = \text{carbohidratos totales}$$

Determinación de contenido energético

Para la determinación del contenido calórico se realizó mediante el uso de reglas de 3, tomando en cuenta 9 Kcal/g para la grasa, 4 Kcal/g para proteína y carbohidratos respectivamente. En seguida se sumaron las Kcal que se obtuvieron de la grasa, proteína y carbohidratos por último se multiplico por 100 el resultado.

3.5. ETAPA V: EVALUACIÓN SENSORIAL

La evaluación se llevó a cabo con alumnos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, campus (Saltillo Coahuila), utilizando una prueba triangular de diferenciación.

Prueba triangular

Se determinó realizar una prueba triangular para los panes muffins para identificar si el consumidor podía detectar las diferencias entre los tratamientos.

Esta prueba consiste en presentar a los panelistas simultáneamente tres muestras codificadas, de las cuales dos son iguales y una diferente. El panelista debe identificar la muestra diferente. Las muestras se deben presentar a cada panelista en diferente orden. La figura 1 muestra un ejemplo del formato utilizado para esta prueba.

Proceso de evaluación

Se realizó solamente una evaluación del sabor por medio de una prueba triangular. Se utilizó un panel de evaluación de 74 jueces no entrenados (consumidores), presentándoles a cada uno dos platos que contenían tres muestras por cada plato, de los cuales dos eran iguales y una diferente, se les pidió que señalaran cual de la muestra diferente y lo indicaran en la hoja de evaluación (Figura 1).

NOMBRE _____ FECHA _____

NOMBRE DEL PRODUCTO _____ PAN DULCE (QUEQUITOS) _____

FRENTE A USTED HAY DOS PARES DE MUESTRAS CON TRES PANES DULCES (QUEQUITOS), PRUEBA CADA UNA CON CUIDADO Y ANOTA EL NÚMERO DE LA MUESTRA QUE CONSIDERAS QUE ES DIFERENTE CONSIDERANDO EL SABOR.

PARES DE MUESTRAS	MUESTRA DIFERENTE
PAR 1:	_____
PAR 2:	_____

FAVOR DE ANOTAR CUALQUIER COMENTARIO YA QUE NOS SON MUY UTILES:

¡MUCHAS GRACIAS!

Figura 1. Hoja de evaluación del pan tipo muffin.

NOTA: los pares no tienen código asignado en la hoja ya que se anotaron a mano después por que fueron aleatorios.

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. ETAPA I: Determinación de los tipos de microorganismos responsables del deterioro del pan tipo muffin utilizando un microscopio.

La principal causa de deterioro de los alimentos es el ataque por diferentes tipos de microorganismos (bacterias, levaduras y mohos). El problema del deterioro microbiano de los alimentos tienen implicaciones económicas evidentes, tanto para los fabricantes (deterioro de materias primas y productos elaborados antes de su comercialización) como para distribuidores y consumidores (deterioro después de su adquisición y antes de su consumo) (Matamoros, 1998).

Debido a sus características, el pan es susceptible a la germinación de mohos. Una vez que el pan ha salido del horno, el riesgo se incrementa si no es manipulado bajo condiciones estrictamente asépticas, ya que el aire es el medio por el cual las esporas de mohos llegan a él (Stanley *et al*, 2007). Su crecimiento depende la temperatura, la concentración de oxígeno (son aerobios estrictos) en el empaque y la contaminación del pan previa al empaquetado (Nobile *et al*, 2003). Es por ello que se debe de poner especial atención mientras es enfriado, rebanado, envasado y almacenado. El proceso de deterioro se acelera si el pan es guardado dentro de un recipiente cerrado y todavía no está completamente frío (después de salir del horno), debido al vapor que se genera aumentando la humedad del ambiente en el que se encuentra (Stanley *et al*, 2007).

En esta etapa se determinó que tipo de microorganismos son los principales responsables del deterioro del pan, esto se logró dependiendo del tipo de agar en que crecieron, se utilizaron dos tipos de agares, Agar Nutritivo para bacterias y Agar Papa dextrosa (PDA) para levaduras y hongos, se sembró por triplicado.

Estas muestras se incubaron a 30°C durante 72 horas en una incubadora orbital INO-650V-7, transcurridas las horas señaladas observamos las cajas Petri, las que contenían Agar Nutritivo no hubo crecimiento de ningún tipo de microorganismos, lo que nos da a entender de que los responsables del deterioro de los panes no son

bacterias, por otra parte en las cajas Petri de Agar Papa Dextrosa (PDA), hubo crecimiento de microorganismos, por lo tanto los responsables de dicho deterioro de los panes son levaduras u hongos.

Las colonias tenían color crema, superficie lisa, y de aspecto seco. Para confirmar y tener un mayor conocimiento sobre estos microorganismos, lo observamos en un microscopio (Sumilab Labomed CXL) y tomando como base a la literatura de las características morfológicas de los microorganismos reportadas en la literatura, determinamos que son levaduras las que se muestran a continuación en la figura 2.

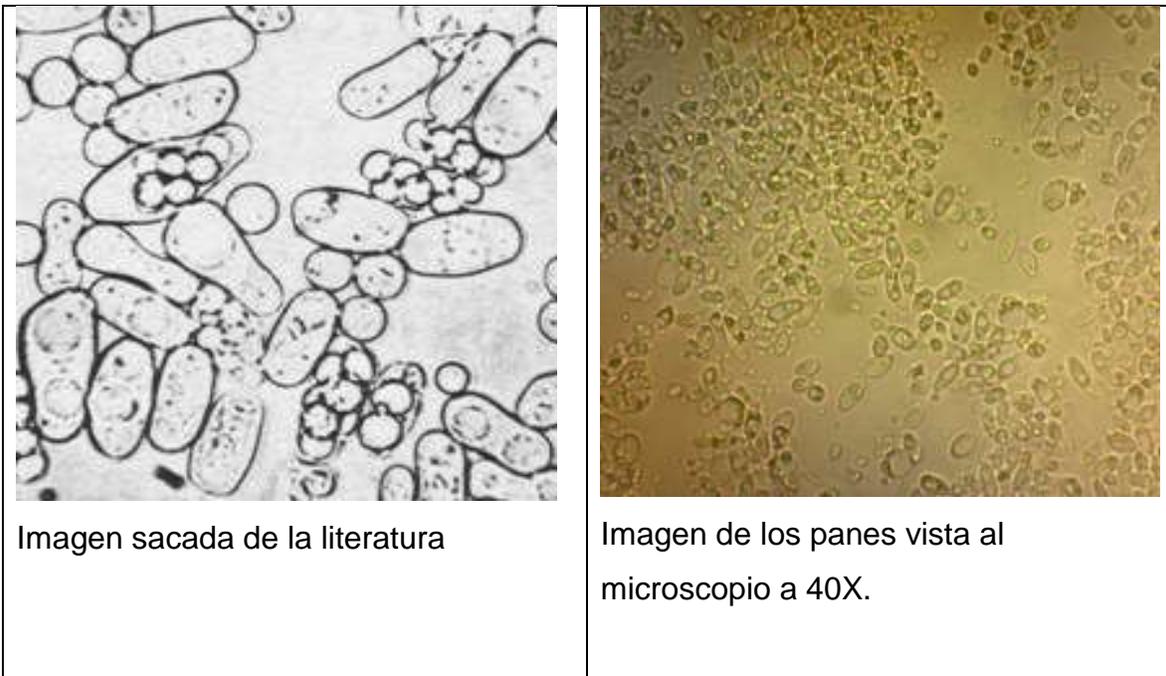


Figura 2. Comparación de levaduras vistas al microscopio y literatura.

4.2. ETAPA II: Determinar la concentración adecuada de cada conservador natural (*ácido cítrico, vinagre de manzana y aceite de orégano*) no modificando el sabor.

El uso de aditivos alimentarios de origen natural implica el aislamiento, purificación, estabilización e incorporación de dichos compuestos a los alimentos con fines antimicrobianos, sin que ello afecte negativamente a las características sensoriales, nutritivas y su garantía sanitaria. Esto tiene que lograrse manteniendo los costos de formulación, procesamiento o comercialización (Raybaudi-Massilia *et al.*, 2006).

El sabor en los productos para consumo humano es de suma importancia, ya que es un factor que determina la calidad del alimento, en relación a las pruebas que se realizaron para determinar una concentración o porcentaje aceptable donde el objetivo era no modificar el sabor. Posteriormente se elaboraron los panes con diferentes concentraciones para cada conservador, para el vinagre de manzana se probó las concentraciones de 1%, 3%, 4% y 5%; para el ácido cítrico 0.5%, 1%, 3% y 5%; para el aceite de orégano 0.05%, 0.075%, 0.1% y 0.15%, se realizó una evaluación sensorial con jueces semientrenados, esto con el objetivo de determinar las concentraciones máximas aceptables; para el vinagre de manzana fue de 3%; para el ácido cítrico de 0.5% y para el aceite de orégano 0.075%, estos porcentajes están dados en relación a la proporción de harina. Para hacer las respectivas sinergias se utilizaron límites inferiores y superiores de los porcentajes antes mencionados (concentraciones máximas aceptables), y se sometió al programa Minitab 16.1.0.0 mediante un diseño ortogonal de Taguchi con un arreglo L8 y el programa arrojó los siguientes resultados:

Cuadro 1. Concentraciones de los conservadores en los diferentes tratamientos.

TRATAMIENTO	A. CITRICO %	VINAGRE %	OREGANO %
Testigo	-	-	-
T1	0.5	-	-
T2	-	3.0	-
T3	-	-	0.075
T4	-	2.5	0.05
T5	-	3.5	0.10
T6	0.4	-	0.05
T7	0.4	2.5	0.10
T8	0.4	3.5	-
T9	0.6	-	0.10
T10	0.6	2.5	-
T11	0.6	3.5	0.05

Cuadro 2. Resultados de la evaluación sensorial.

	Ácido cítrico %				Vinagre de manzana %				Aceite de orégano %			
	0.5	1	3	5	1	3	4	5	0.05	0.075	0.10	0.15
Juez 1		X	X	X	X		X	X	X		X	X
Juez 2		X	X	X	X		X	X	X		X	X
Juez 3		X	X	X	X		X	X	X		X	X
Juez 4		X	X	X	X		X	X	X		X	X
Juez 5		X	X	X	X		X	X	X		X	X



Figura 3. Panes tipo muffins.

4.3. ETAPA III: Análisis microbiológicos de los panes (muffins) con la adición de conservadores naturales (Ácido Cítrico, vinagre de manzana y Aceite de Orégano).

En esta etapa se analizaron 11 tratamientos con sus respectivas sinergias, y un testigo que no contenía ningún conservador como referencia, en base a esto se tomó 1 g representativo de cada pan con su respectivo tratamiento, este proceso se realizó cada 24 horas durante 96 horas consecutivas, se diluyó las muestras hasta alcanzar un factor de conversión de 10^{-3} y estas se sembraron en cajas Petri por duplicado en PDA para levaduras y hongos, se encubieron las cajas Petri a 30°C para cada día, y se contaron las colonias de cada caja Petri en un cuentacolonia (marca Scientific) sacando un promedio de cada tratamiento, para determinar el resultado final de UFC por gramo de muestra se utilizó la siguiente fórmula:

$\text{UFC/g} = (\text{No. De colonias} * \text{factor de dilución}) / \text{mL tomados para verter en las cajas Petri.}$

En esta grafica podemos observar que en ningún tratamiento hay crecimiento, esta prueba se realizó en el T0 (tiempo inicial).



Figura 4. Gráfica de UFC/g contadas al tiempo inicial.

En esta grafica se observa que únicamente hubo crecimiento en el testigo con 112,000 UFC/g y el T2 con 8,000 UFC/g, y en los demás no se presentó ninguna proliferación microbiana.



Figura 5. Gráfica de UFC/g contadas a las 24 horas.

En esta grafica se observa que hubo crecimiento en el testigo y en otros tratamientos, el testigo 360,000 UFC/g, para el T2 hubo gran proliferación 1,540,000 UFC/g; para el T3 y T5 hubo un pequeño crecimiento, el T9 fue muy similar al testigo.

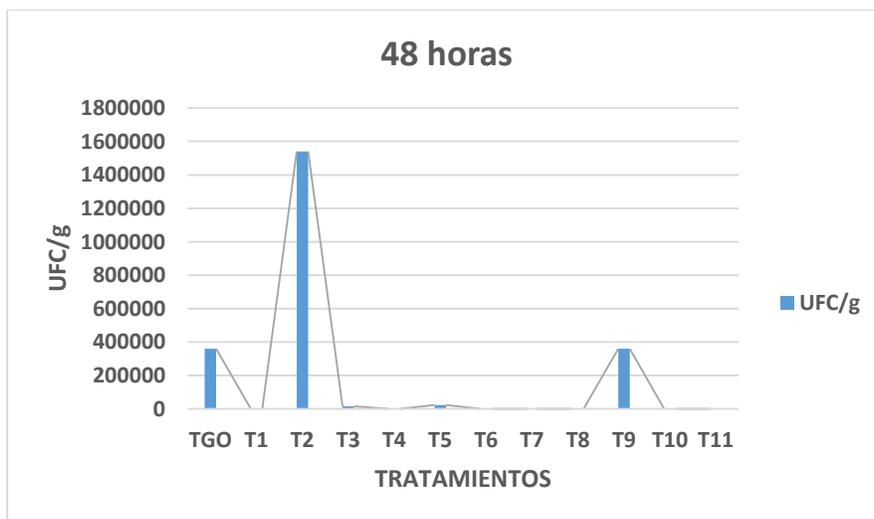


Figura 6. Gráfica de UFC/g contadas a las 48 horas.

Podemos observar que ya se presenta más crecimiento en los diferentes tratamientos, para el Testigo (TGO), T1, T3, T6, T8, y T9 presentan un crecimiento incontable y cabe mencionar que se le puso un valor como referencia para poder representarlo gráficamente, para el T2 1,900,000 UFC/g, T10 1,140,000 UFC/g, T5 80,000 UFC/g, pero para el T4, T7 y T11 no hubo crecimiento.



Figura 7. Gráfica de UFC/g contadas a las 72 horas.

En esta grafica se puede observar que hubo mayor crecimiento en comparación a las evaluaciones anteriores, para el testigo presento un crecimiento incontable, de igual forma para los T1, T2, T3, T8, T9 y T10. Para el T6 2,580,000 UFC/g, el T5 92,000 UFC/g, y en los T4, T7 y T11 no hubo crecimiento.



Figura 8. Gráfica de UFC/g contadas a las 96 horas.

Como resultado obtuvimos que los tratamientos T4 (2.5% a. acético y 0.05% aceite de orégano), T7 (0.4% a. cítrico, 2.5% vinagre de manzana y 0.10% aceite de orégano), y T11 (0.6% a. cítrico, 3.5% vinagre de manzana y 0.05% aceite de orégano) fueran los mejores, ya que no se presenta crecimiento microbiano en las 96 horas evaluadas.

Cuadro 3. Concentración de los tratamientos (T4, T7 y T11).

Conservadores/Tratamientos	Ácido cítrico (%)	Vinagre de manzana (%)	Orégano (%)
Testigo	-	-	-
Tratamiento 4	-	2.5	0.05
Tratamiento 7	0.4	2.5	0.10
Tratamiento 11	0.6	3.5	0.05

4.4. ETAPA IV: Evaluación bromatológica

Pan tipo muffin

En el cuadro 2 se muestran los resultados del pan muffin con el T4 (vinagre de manzana 2.5% y aceite de orégano 0.05). Se tomó este tratamiento debido a que fue uno de los tres mejores resultados de inhibición microbiana y se observa que no hay diferencias significativas en comparación a los muffins tradicionales y que sigue conservando sus mismas propiedades nutrimentales de un pan de muffin.

Cuadro 4. Composición nutrimental del pan muffin (Valores expresados en gramos en porciones de 100 g).

	Pan muffin
Grasa total	36.20
Proteína	7.02
Hidratos de carbono	40.66

Minerales	1.35
Humedad	14.78
Fibra	0
Contenido energético	516.49 Kcal

4.5. ETAPA V: Evaluación Sensorial de los panes muffins

Concordando con Bárcenas *et al.*, (2001), quienes mencionan que en el momento de evaluar las preferencias de un producto, los consumidores no tienen los mismos conceptos de aceptabilidad, lo que hace amplio el margen de preferencias, esto es que cada consumidor puede tener una idea de lo que es el sabor o la apariencia ideal de lo evaluado, Las preferencias organolépticas para muchos alimentos están influenciadas por la cultura regional (Witting *et al*, 2005), por lo que es necesario determinar para cada producto estándares que satisfagan al mercado objetivo (Pérez *et al*, 2007). Actualmente existen lineamientos limitados de análisis sensorial, dichas normas no consideran las características particulares de cada alimento, como su proceso de manufactura o su presentación (Tejada *et a*, 2006).

Resultados de prueba triangular del pan muffin

El objetivo de realizar esta prueba fue para determinar si existía diferencias significativas entre los panes con conservadores del (T4 y T7) y un testigo, es decir este sin ningún conservador. El tratamiento (T4) con 2.5% vinagre de manzana y 0.05% de aceite de orégano, el tratamiento (T7) con 0.4% de ácido cítrico, 2.5% de vinagre de manzana y 0.10% de aceite de orégano.

Para el T4 26 panelistas identificaron la muestra diferente y 48 que no encontraron diferencias, para el T7 28 que si identificaron la muestra diferente y 46 que no. Obteniendo estos resultados se realizó un análisis estadístico Ji Cuadrada con un

alfa de 0.05 unilateral para los dos análisis, y se obtuvo lo siguiente: para el T4 se realizaron dos hipótesis ($H_0: A = B$ donde $A =$ pan testigo y $B =$ pan con el T4, y $H_A: A \neq B$), como resultado obtuvimos que ($X^2_{calculada} \mathbf{0.0723} < X^2_{tabla} \mathbf{4.61}$), por lo tanto se acepta H_0 , es decir, que no hay diferencias significativas entre el pan testigo y el T4. Para el T7 se realizaron también dos hipótesis ($H_0: A = C$ donde $A =$ pan testigo y $C =$ pan con el T7, y $H_A: A \neq C$), como resultado obtuvimos que ($X^2_{calculada} \mathbf{0.5885} < X^2_{tabla} \mathbf{4.61}$), por lo tanto se acepta H_0 , es decir, que no hay diferencias significativas entre el pan testigo y el T7.

Cuadro 5. Respuestas de la evaluación sensorial.

Muestras	Respuestas correctas	Respuestas incorrectas
Tratamiento 4	26	48
Tratamiento 7	28	46

5. CONCLUSIONES

Se evaluaron los diferentes conservadores naturales (vinagre de manzana, ácido cítrico y aceite de orégano) en diferentes proporciones y con sus respectivas sinergias, para lo cual se concluye lo siguiente:

Debido a que los microorganismos son los principales responsables del deterioro de los panes y en relación a los resultados microbiológicos se obtuvo que los tratamientos (T4) con 2.5% de vinagre de manzana y 0.05% de aceite de orégano, (T7) con 0.4% de ácido cítrico, 2.5% de vinagre de manzana y 0.10% de aceite de orégano, (T11) con 0.6% de ácido cítrico, 3.5% de vinagre de manzana y 0.05% de aceite de orégano, fueron los que presentaron mayor inhibición a las 96 horas de evaluación, por lo cual estas sinergias y concentraciones alargan la vida útil de los panes tipo muffins, sin embargo se debe de tener cuidado en la adición de estos ya que en concentraciones elevadas modifican el sabor y es inaceptable por los consumidores.

Para la evaluación sensorial se tomaron los tratamientos (T4 y T7) descartando el T11 debido a que es la misma sinergia que el T7 pero en mayor proporciones dando los mismo resultados. En base a los resultados obtenidos mediante jueces consumidores se determina que no existen diferencias significativas entre los panes con los tratamientos (T4 y T7) y sin estos, es decir, que los jueces evaluadores no percibieron el sabor a los conservadores a estas concentraciones.

En general se concluye que el mejor tratamiento considerando los costos y las proporciones, que el tratamiento (T4) con 2.5% de vinagre de manzana y 0.05% de aceite de orégano es el óptimo, y este nos permite obtener los mismo resultados que los T7 y T11 presentando mayor inhibición a las 96 horas, por lo cual se observó que hay un mayor potencial de inhibición en las sinergias de ambos conservadores que solos.

6. PERSPECTIVAS

Realizar más pruebas microbiológicas de los tratamientos (T4, T7 y T11) para determinar hasta qué tiempo presenta crecimiento microbiano, así como también realizar evaluaciones sensoriales al tiempo final para determinar la aceptabilidad, lo cual está ligado a la vida útil.

Realizar más evaluaciones en panes con otros conservadores naturales logrando cumplir con las exigencias de los consumidores que requieren alimentos más saludables con la menor cantidad de conservadores químicos.

7. BIBLIOGRAFÍA

Al-Asheh, S.; Duvnjak, Z. 1995. The effect of phosphate concentration on phytase production and the reduction of phytic acid content in canola meal by *Aspergillus carbonarius* during a solid-state fermentation process. *Appl. Microbiol. and Biotechnol.* 43 (1): 25-30.

Aleixandre, J.L. 1996. Procesos de Elaboración de Alimentos. Ed. U.P.V., Valencia.

Aligiannis N, Kalpoutzakis E, Mitaku S, Chinou IB. 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4168-4170.

Álvarez-Parrilla, 2005. Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas. Disponible en: http://www.ciad.mx/dtaov/XI_22CYTED/images/files_pdf/brasil/olga.pdf

Ávila, J. M., Beltrán, B., Cuadrado, C., del Pozo, S., Rodríguez, M. V., Ruiz, E. 2007. La Alimentación Española: características nutricionales de los principales alimentos de nuestra dieta. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Badui, D. 2006. *Química de los alimentos*. Cuarta edición. Pearson educación. México. 716 p.

Bello, J. 2000. Ciencia bromatológica. Principios generales de los alimentos. Madrid: Diaz de Santos

Beuchat, L.R. y Golden, D.A. 1989. Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol.* 43(1): 134-142.

Blanchard J., 2000. Los antimicrobianos naturales refuerzan la seguridad en los alimentos. Disponible en: <http://www.directoalpaladar.com/2006/10/28-los-antimicrobianos-naturales-refuerzan-la-seguridad-en-los-alimentos>. [consulta: 30 de septiembre de 2015]

Bolumen, S. 2005. Instituto de investigaciones para la industria alimenticia. Vida útil de los alimentos envasados. Colombia: El Instituto, 2005. 115p.

Bourgeois, C.M.; Larpent, J.P. 1995. Microbiología alimentaria. Ed. Acribia. Zaragoza.

Burt SA, Reinders RD. 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Lett Applied Microbiol.*; 36: 162-167.

Calaveras, J.1996. Tratado de Panificación y Bollería. Ed. AMV, Madrid.

Calvel, R. 1983. La Panadería Moderna. Ed. América Lee, Buenos Aires.

Calvel, R. 1994. El Sabor del Pan. Ed. Montagud, Barcelona.

Chung, D., Papadakis, S. y Yam, K. 2001. Release of propyl paraben from a polymer coating into wáter and food simulating solvents for antimicrobial packaging application. *Journal of Food Processing and Preservation*. 25:71-87

Clavel, R. 2009. El sabor del pan, Molinería y Panadería. (2001), <http://www.molineriaypanaderia.com/> Técnica Accedido: 24 de Abril 2009.

Conservantes. (s.f). Recuperado el 25 de octubre de 2015, de <http://milksci.unizar.es/adit/conser.html>

Davidson, P. M. 1997. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. En: M. P. Doyle, L. R. Beuchat y T. J. Montville (Eds). *Food Microbiology-Fundamentals and Frontiers*. ASM Press. Washington D.C. pp. 520-556

Demain, A. L. 2000. Small bugs, big business: the economic power of the microbe. *Biotechnology Advances*. 18: 499-514.

Devi, N. A.; Rao, A. G. A. 1996. Fractionation, purification and preliminary characterization of polygalacturonases produced by *Aspergillus carbonarius*. *Enzyme Microb. Technol*. 18: 59-65.

Eliasson, A.CH.; Larsson, K. 1993. Cereals in Breadmaking: A Molecular Colloidal Approach. Ed. Marcel Dekker, New York.

- Guinet**, R.; Godon, B. 1996. La Panificación. Ed. Montagud, Barcelona.
- Holley**, R. y Patel D. 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essentials oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*. 22:273-292
http://biblioteca.uns.edu.pe/saladocentes/archivos/curzoz/aula_2_iii_unidad.pdf
- Humanes**, J.P. 1994. Pastelería y Panadería. Ed. McGraw-hill Interamericana, Madrid.
- Incerhpan**, 2007. Dossier de prensa de la campaña “Pan cada día”. Disponible en <http://www.eufic.org/article/es/rid/pan-alimento-basico-de-nuestra-dieta/> [Consulta 04 / Dic. /2015]
- Jay**, J. 2002. Microbiología Moderna de los Alimentos. Cuarta Edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. 239 p.
- Juven**, B. J., Kanner, J., Schved, F. y Weissolowics, H. 1994. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oils and its active constituents. *Journal of Applied Bacteriology*. 76:626-631.
- Kim**, E. K.; Roberts, R. S. 1991. Rate equation for the vigorous stationary phase fermentation of citric acid by *Saccharomycopsis lipolytica*. *Biotechnol. Bioeng.* 37 (6): 985-988.
- Klasson**, T. K.; Clausen, E. C.; Gaddy, J. L. 1989. Continuous fermentation for the production of citric acid from glucose. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 20/21: 491-509.
- Kubicek**, C. P., Röhr, M. 1986. Citric acid fermentation. *CRC Crit. Rev. Biotechnol.* 3: 331-373.
- Labuza**. 1999. Vida útil (Shelf Life) de los alimentos. Disponible en: http://biblioteca.uns.edu.pe/saladocentes/archivos/curzoz/aula_2_iii_unidad.pdf
- Labuza**, T. 2000 The Search for shelf life. Food testing Analysis. Determination of the Shelf Life of Foods.s.l. : s.n., p 32 .
- Lambert**, J.L., Le – Bail., A., Zuniga, R., Van –Haesendonck, I., Vnzeveren, E., Petit C., Rose11L, M.C., Collar, C., Curic, D., Colic- Baric, I., Sikora, M. & Ziobro, R. 2009.

The attitudes of European consumers toward innovation in bread interest of the consumers toward selected quality attributes. *Journal of Sensory Studies*, 24 (2), 204-219.

Lucas, E. 2008. Elaboración de pan. *Biotecnología de la fermentación*. (2008), <http://www.aldeaeducativa.com/panificaciòn/elaboraciòndelpan.html>, Acceso: 04 de Abril 2009.

Ludwig Mayer. 1987. *Métodos de la industria química*. España: REVERTE S.A. Pag. 84, 87.

Man, 2004. *Caducidad de los alimentos*. Acribia, S.A. Zaragoza España. 107 p.

Martín, E., de Mateo, B., Miján, A, Pérez, A. M., Redondo, P., Sáenz, I. 2007. *Pan y Cereales*. Dirección General de Salud Pública y Alimentación. Comunidad de Madrid.

Matamoros, L., (1998). Aumenta el uso de antimicrobianos naturales en la UE para garantizar la seguridad de los alimentos manteniendo sus características. Disponible en: <http://www.salud7.com.mx/nutricion/2006/12/antimicrobianos-naturales-y-conservacin.html> [Consulta 26 / Nov. /2015]

Miralbés, C. 2000. *Enzimas en Panadería*. Ed. Montagud, Barcelona.

More 2008, M. M., Dal Bello, F. y Arendt, E. K. 2008. Sourdough fermented by *Lactobacillus plantarum* FST 1.7 improves the quality and shelf life of gluten-free bread. *European Food Research Technology*. 226: 1309- 1316.

Moresi, M. 1994. Effect of glucose concentration of citric acid production by *Yarrowia lipolytica*. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 60 (4): 387-395.

Nielsen S. 2008. *Suzanne Análisis de los Alimentos*, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España), V. páginas 123-125, 135-143.

Nobile, M. A., Martoriello, T., Cavella, S., Giudici, P. y Masi, P. 2003. Shelf extensión of durum wheat bread. *Journal of Science*. 15(3): 383- 393.

Norma Mexicana NMX-F-516-1992. Alimentos. Productos de panificación. Clasificaciones y definiciones. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. Mexico.

Norma Oficial Mexicana. NOM-111-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

Nychas, G.J.E. 1995. Natural Antimicrobials from plants. En: New Methods of food preservation. G.W. Gould (Ed.). Blakie Academia y Professional. Glasgow. p. 1-21. Citado en: Welti-Chanes, J., Vergara-Balderas, F., y López-Malo, A. 1997. Minimally Processed foods state of the Art and Future. En: P. Fito., E. Ortega-Rodriguez y G. Barbosa-Canovas (Eds.). Food Engineering 2000. E.U.A. Chapman y Hall. pp. 181-212.

Pepe, O., Blaiotta, G., Monschetti, G., Greco, T. y Villani, F. 2003. Rope- producing strains of Bacillus spp. From wheat bread and strategy for their control by lactic acid bacteria. Applied and Environmental Microbiology. 69(4): 2321-2329.

Poinot, P., Arvisenet, G., Grua-Priol, J., Colas, D., Fillonneau, C., Le Bail, A. & Prost, C. 2008. Influence of formulation and process on the aromatic profile and physical characteristic of bread Journal of Cereal Science, 48, 686-697.

Raybaudi-Massilia, R. M., Soliva Fortuny, R., Martín Belloso, O. 2006. Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas frescas y frescas cortadas. Simpósio Ibero-Americano de Vegetais Frescos Cortados, San Pedro, SP Brazil, Abril 2006. Disponible en: http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/ia/hernandez_p_ld/capitulo4.pdf, [consulta 26/11/15].

Ribotta, P. D. y Tadini, C. C. 2009. *Alternativas tecnológicas para la elaboración y la conservación de productos panificados*. Primera edición. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. 327 p.

Rodríguez, E. 2011. "Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas". Revista Redalyc. (Vol. 7, Núm.1). "Presentación online". México. Pp. 153-177. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46116742014>

Saham, Y. 2011. Effect of *Prunus laurocerasus* L. (Cherry Laurel) leaf extracts on growth of bread spoilage fungi. *Bulgarian Journal of Agriculture Science*. 17(1) 83-92.

Salgado, A. Jiménez, M. 2012. "Métodos de control de crecimiento microbiano en pan". *Revista de la Universidad de las Américas Puebla*. (Vol. 6, No. 2). "Presentación online". México. Pp. 160-172. <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Salgado-Nava-et-al-2012.pdf>

Secretaría de Salud. NOM-110-SSA1-1994. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico. Norma Oficial Mexicana. México.

Serna, S. 2003. *Manufactura y control de calidad de productos basados en cereales*. 1era Edición, Mexico D.F. 340 p. AGT EDITOR S.A.

SIAP. Consultado el 25/07/15. En línea. Disponible: <http://www.siap.gob.mx/opt/123/75/74.html>.

Skandamis, P. N. y Nychas, G. J-E. 2001. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal of Applied Microbiology*. 91:1011-1022.

Stanley, P., Cauvain S. P. y Young, L. S. 2007. *Technology of bread making*. Second edition. Springer Science+Business Media, New York. E.E.U.U. 389 p.

Tejero, F. 1992-1995. *Panadería Española*. (2 vols.). Ed. Montagud, Barcelona.

Ultee, A., Gorris, L. G. M. y Smind, E. J. 1998. Bactericidal activity of carvacrol towards the food-borne pathogen *Bacillus cereus* *Journal of Applied Microbiology*. 85(2): 211-218

Vorob'eva, L. I. 1989. *Promishlennaya mikrobiologiya*. Moscú, Rusia: MGU. 294.

Yoneda, N.; Kusano, S.; Yasui, M.; Pujado, P.; Wilcher, S. 2001. «Recent advances in processes and catalysts for the production of acetic acid». *Applied Catalysis A, General* 221 (1-2): 253–265