

**UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS**



*Una Institución Adventista*

**Evaluación de la cinética bacteriana en masas madres**

Tesis para obtener el Título Profesional de Ingeniero de Alimentos

Por:

Jhon Francly Quispe Quecaño

Asesor:

Ing. Alex Danny Chambi Rodríguez

**Juliaca, febrero de 2021**

## **DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA DEL INFORME DE TESIS**

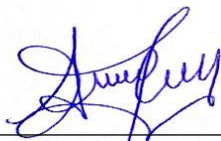
Alex Danny Chambi Rodríguez, de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Escuela Profesional de Ingeniería de Industrias Alimentarias, de la Universidad Peruana Unión.

### **DECLARO:**

Que el presente informe de investigación titulado: **“EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA BACTERIANA EN MASAS MADRES”** constituye la memoria que presenta el Bachiller **Jhon Francly Quispe Quecaño** para obtener el título de Profesional de Ingeniero de Alimentos, cuya tesis ha sido realizada en la Universidad Peruana Unión bajo mi dirección.

Las opiniones y declaraciones en este informe son de entera responsabilidad del autor, sin comprometer a la institución.

Y estando de acuerdo, firmo la presente declaración en Juliaca, a los 13 días del mes de Setiembre de 2021.



---

Ing. Alex Danny Chambi Rodríguez

Asesor



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

En Puno, Juliaca, Villa Chullunquiani, a 10 día(s) del mes de febrero del año 2021, siendo las 13:00 horas, se reunieron en el Salón de Grados y Títulos de la Universidad Peruana Unión, Filial Juliaca, bajo la dirección del Señor Presidente del jurado: Ing. Joel Jerson Coaguira Quispe, el secretario: Ing. Emisuel Mamani Oulla y los demás miembros: Ing. Ana Mónica Torres Jimenez y el asesor Ing. Alex Danny Bkambi Rodriguez

con el propósito de administrar el acto académico de sustentación de la tesis titulada: "Evaluación de la cinética bacteriana en masas maduras"

de el(los)/a(las) bachiller(es): a) Jhon Frandy Quispe Quecaño  
 b) .....  
 conducente a la obtención del título profesional de Ingeniero de Alimentos  
 (Nombre del Título Profesional)

con mención en.....  
 El Presidente inició el acto académico de sustentación invitando al (los)/a(la)(las) candidato(a)s hacer uso del tiempo determinado para su exposición. Concluida la exposición, el Presidente invitó a los demás miembros del jurado a efectuar las preguntas, y aclaraciones pertinentes, las cuales fueron absueltas por el(los)/a(las) candidato(a)s. Luego, se produjo un receso para las deliberaciones y la emisión del dictamen del jurado.

Posteriormente, el jurado procedió a dejar constancia escrita sobre la evaluación en la presente acta, con el dictamen siguiente: Jhon Frandy Quispe Quecaño

Candidato (a): .....

| CALIFICACIÓN    | ESCALAS   |           |              | Mérito           |
|-----------------|-----------|-----------|--------------|------------------|
|                 | Vigesimal | Literal   | Cualitativa  |                  |
| <u>Aprobado</u> | <u>15</u> | <u>B-</u> | <u>Buena</u> | <u>Muy bueno</u> |

Candidato (b): .....

| CALIFICACIÓN | ESCALAS   |         |             | Mérito |
|--------------|-----------|---------|-------------|--------|
|              | Vigesimal | Literal | Cualitativa |        |
|              |           |         |             |        |

(\*) Ver parte posterior

Finalmente, el Presidente del jurado invitó al(los)/a(la)(las) candidato(a)s a ponerse de pie, para recibir la evaluación final y concluir el acto académico de sustentación procediéndose a registrar las firmas respectivas.

\_\_\_\_\_  
 Presidente


\_\_\_\_\_  
 Asesor

\_\_\_\_\_  
 Candidato/a (a)

\_\_\_\_\_  
 Miembro

\_\_\_\_\_  
 Miembro

\_\_\_\_\_  
 Candidato/a (b)

  
 Secretario

## **Dedicatoria**

El presente estudio lo dedico, en primer lugar, a mi Divino Creador Dios quien me dio la fuerza para persistir y soportar estos difíciles años.

A la memoria de mis padres Felipe Quispe L. Nelia Quecaño Q, a quién brindándome su confianza en cada reto que se presentaba y apoyo incondicional en todo momento, también me inició en la tarea de hacerme un ingeniero y en la vida del auténtico cristianismo.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Peruana Unión, a la Facultad de Ingeniería y Arquitectura y a carrera Profesional de Ingeniería de Alimentos.

A mi asesor de tesis Ing. Alex Danny Chambi Rodríguez por todo el apoyo y tiempo y por brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y a la experiencia,

También expresar mi sincero agradecimiento a todos mis docentes: Ing. Joel Jerson Coaquira Quispe Ing. Cesar Augusto Condori Mamani, Ing. Ana Mónica Torres Jiménez, Ing. Enrique Mamani Cuela, MSc. Carmen Rosa Apaza Humerez, por brindarme toda su capacidad y experiencia.

Y por último muy especial a PRONABEC (Programa Nacional de Becas y Créditos) por darme esta oportunidad de realizar estudios superiores, estaré eternamente agradecido.

“Mira que te mando que te esfuerces y seas valiente; no temas ni desmayes, porque Jehová tu Dios estará contigo en dondequiera que vayas.”

Josué 1:9

## ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| <b>I. EL PROBLEMA</b> .....   | 13 |
| <b>REVISIÓN DE LA LITERATURA</b> .....                                  | 15 |
| <b>1.1. Bases Teóricas</b> .....  | 15 |
| <b>1.2. Marco conceptual</b> .....                                      | 16 |
| <b>1.2.1. Definición de pan.</b> .....                                  | 16 |
| <b>1.2.1.1. Composición Proximal del pan</b> .....                      | 16 |
| <b>1.2.2. Ingredientes</b> .....  | 17 |
| <b>1.2.2.1. Harina de Trigo</b> .....                                   | 17 |
| <b>1.2.2.2. Sal</b> .....   | 18 |
| <b>1.2.2.3. Levadura.</b> .....   | 18 |
| <b>1.2.2.4. Grasas.</b> .....   | 19 |
| <b>1.2.2.5. Azúcar</b> .....  | 20 |
| <b>1.2.2.6. Aditivos.</b> .....   | 20 |
| <b>1.2.3. Requisitos mínimos de pan.</b> .....                          | 22 |
| <b>1.2.4. Pre-fermento</b> .....  | 23 |
| <b>1.2.5. Bacterias Lácticas</b> .....                                  | 25 |
| <b>1.2.5.1. Saccharomyces boulardii</b> .....                           | 26 |
| <b>1.2.5.1.1. Forma y farmacocinética</b> .....                         | 28 |
| <b>1.2.5.2. Lactobacillus Lactis</b> .....                              | 28 |
| <b>1.2.6. Crecimiento bacteriano</b> .....                              | 30 |
| <b>1.2.6.1. Crecimiento microbiano en medio líquido</b> .....           | 30 |
| <b>1.2.6.2. Crecimiento microbiano en medio solido</b> .....            | 32 |
| <b>1.2.7. Modelos predictivos del crecimiento microbiano</b> .....      | 33 |
| <b>1.2.7.1. Modelos primarios.</b> .....                                | 34 |
| <b>1.2.7.2. Modelos secundarios</b> .....                               | 34 |
| <b>1.2.7.3. Modelos terciarios</b> .....                                | 35 |
| <b>1.2.8. Cinética microbiana</b> .....                                 | 35 |
| <b>1.2.8.1. Cinética de crecimiento de un cultivo discontinuo</b> ..... | 36 |
| <b>1.2.8.2. Cinética de crecimiento en un cultivo continuo.</b> .....   | 37 |
| <b>1.3. Antecedentes</b> .....  | 38 |

|          |   |    |
|----------|---|----|
| 1.3.1.   | Bacterias presentes en los prefermentos.....                  | 38 |
| 1.3.2.   | Adición de bacterias en masas .....                           | 38 |
| 1.4.     | Hipótesis .....   | 39 |
| 1.4.1.   | Hipótesis general.....  | 39 |
| 1.4.2.   | Hipótesis específicas .....                                   | 39 |
| 1.5.     | Identificación de variables e indicadores .....               | 39 |
| 1.6.     | Operacionalización de Variables .....                         | 40 |
| 1.6.1.   | Variable pre-fermento.....                                    | 40 |
| 1.6.2.   | Variable Bacterias Lácticas .....                             | 40 |
| II.      | MATERIALES Y MÉTODOS .....                                    | 41 |
| 2.1.     | Materia prima.....  | 41 |
| 2.1.1.   | El pre-fermento.....  | 41 |
| 2.1.2.   | Bacterias lácticas .....                                      | 41 |
| 2.2.     | Materiales y equipos.....                                     | 41 |
| 2.3.     | Reactivos .....   | 42 |
| 2.4.     | Metodología.....  | 42 |
| 2.4.1.   | Ámbito de estudio .....                                       | 42 |
| 2.4.2.   | Tipo de investigación .....                                   | 42 |
| 2.5.     | Elaboración de los pre-fermentos.....                         | 43 |
| 2.5.1.   | Masa madre.....   | 43 |
| 2.5.1.1. | Descripción del flujograma de elaboración de masa madre ..... | 43 |
| 2.6.     | Elaboración de pan de trigo.....                              | 44 |
| 2.7.     | Cepas de bacterias lácticas y cultivos in vitro.....          | 44 |
| 2.8.     | Determinación de propiedades físicas .....                    | 44 |
| 2.8.1.   | Porosidad.....  | 44 |
| 2.9.     | Determinación de la composición proximal.....                 | 45 |
| 2.9.1.   | Humedad.....  | 45 |
| 2.9.2.   | Ceniza .....  | 45 |
| 2.9.3.   | Proteína .....  | 46 |
| 2.9.4.   | Grasa .....   | 46 |
| 2.9.5.   | Fibra .....   | 46 |
| 2.10.    | Determinación de la curva de crecimiento.....                 | 47 |
|          | RESULTADOS Y DISCUSIONES .....                                | 49 |

|   |    |
|---|----|
| <b>4.1. propiedades físicas</b> .....   | 49 |
| <b>4.1.1. Análisis de volumen pH y acidez en la masa</b> .....                        | 49 |
| <b>4.1.2. Análisis físico y proximal del pan</b> .....                                | 52 |
| <b>4.2. Curva de crecimiento microbiano</b> .....                                     | 56 |
| <b>4.2.1. Curva de crecimiento microbiano de <i>Saccharomyces boulardii</i></b> ..... | 56 |
| <b>4.2.2. Curva de crecimiento microbiano de LL</b> .....                             | 57 |
| <b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....   | 61 |
| <b>5.1. Conclusiones</b> .....  | 61 |
| <b>5.2. Recomendaciones</b> .....   | 62 |
| <b>REFERENCIA</b> .....   | 62 |



## ÍNDICE DE TABLAS

|  |    |
|--|----|
| Tabla 1. Composición del pan 100 g .....   | 17 |
| Tabla 2. Criterios físicos químicos.....   | 23 |
| Tabla 3. Criterios microbiológicos .....   | 23 |
| Tabla 4. Variables de estudio .....  | 40 |
| Tabla 5. Modelos matemáticos de crecimiento microbiano.....  | 47 |
| Tabla 6. Criterios estadísticos de la regresión .....  | 50 |
| Tabla 7. Propiedades físicas del pan.....  | 53 |
| Tabla 8. Características proximales de los tratamientos de pan de trigo con <i>Saccharomyces boulardii</i> y <i>Lactobacillus lactis</i> ..... | 55 |
| Tabla 9. Parámetros cinéticos de crecimiento de <i>Saccharomyces boulardii</i> .....   | 57 |
| Tabla 10. Parámetros cinéticos de crecimiento de <i>Lactobacillus lactis</i> .....   | 59 |
| Tabla 11. Parámetros.....  | 59 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.</b> Formación de la red de gluten. Abang, Chin, & Yusof (2010).....   | 17 |
| <b>Figura 2.</b> Representación de la célula de la levadura. Cauvain & Young (2007). .....   | 19 |
| <b>Figura 3.</b> Métodos de procesamiento de pan .....   | 24 |
| <b>Figura 4.</b> Flujograma de elaboración de masas madres.....  | 25 |
| <b>Figura 5.</b> Visión microscópica de <i>Saccharomyces boulardii</i> . McFarland, (2016). .....  | 26 |
| <b>Figura 6.</b> Crecimiento microbiano de <i>Saccharomyces boulardii</i> . Acevedo G., Romero O., & Espejo T., (2004) .....   | 27 |
| <b>Figura 7.</b> Estructura de la nisina. (Rollema, Kuipers, Both, De Vos, & Siezen, 1995) .....   | 29 |
| <b>Figura 8.</b> Acción de <i>Lactobacillus lactis</i> en el intestino. ....   | 29 |
| <b>Figura 9.</b> curva de crecimiento típica de a levadura. Buitrago y Escobar 2009. Aplicación de levadura <i>Cándida</i> SPP como una alternativa viable para la retardación en la pudrición del banano ( <i>Musa acuminata</i> )..... | 31 |
| <b>Figura 10.</b> Flujograma de elaboración de masa madre.....   | 43 |
| <b>Figura 11.</b> Análisis de volumen en la fermentación de las masas, TCB: Trigo con <i>saccharomyces boulardii</i> ; TLL: trigo con <i>lactobacillus lactis</i> .....  | 49 |
| <b>Figura 12.</b> Monitoreo de pH .....  | 51 |
| <b>Figura 13.</b> Monitoreo del porcentaje de acidez. ....   | 52 |
| <b>Figura 14.</b> Curva de crecimiento microbiano para <i>Saccharomyces boulardii</i> . ....   | 56 |
| <b>Figura 15.</b> Curva de crecimiento microbiano para <i>Lactobacillus lactis</i> . ....  | 58 |
| <b>Figura 16.</b> Análisis sensorial.....  | 60 |

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo de investigación fue evaluar la cinética del crecimiento bacteriano (*Saccharomyces boulardii* y *Lactobacillus lactis*) en masas madres. Para evaluar la cinética bacteriana se utilizó como variable independiente pre-fermento y microorganismos; para variable pendiente; pH y acidez. La curva de crecimiento microbiano de *Sacharmcyces boulardii*, y *Lactobacillus lactis*, se utilizaron modelos matemáticos como; gompertz, logístico, log logístico y weibull. Los resultados en tratamiento de *Saccharomyces boulardii* y *Lactobacillus lactis*; su criterio estadístico de regresión de SB tiene un mejor ajuste con un valor de  $R^2$  de 0.94; con una significancia de 0.01 y 0.05 y en la curva de crecimiento microbiano para *Saccharomyces bulardii*; el modelo matemático Log Logístico tuvo un valor más alto 0.293, el modelo Logístico con un valor de 0.260. Y en curva de crecimiento microbiano *Lactobacillus lactis*; la concentración máxima de crecimiento (C) modelo Logístico lo cual presento el mayor valor con 2.861 luego el modelo Log Logístico con un valor de 2.556. al respecto de la velocidad máxima de crecimiento (B), el modelo que presento un buen ajuste fue el modelo de Gompertz y la velocidad de arranque a la fase exponencial (M) el modelo que presento un buen resultado fue el modelo logístico seguido de Gompertz.

**Palabras claves:** masa madre, propiedades físicas, modelos matemáticos y microorganismos.

## ABSTRACT

The objective of this research work was to evaluate the kinetics of bacterial growth (*saccharomyces boulardii* and *lactobacillus lactis*) in mother masses. To evaluate bacterial kinetics was used as independent variable pre-ferment and microorganisms; for pending variable; pH and acidity. The microbial growth curve of *sacharmcyces boulardii*, and *Lactobacillus lactis*, mathematical models were used such as; gompertz, logistics, logistics logistics and weibull. The results in the treatment of *saccharomyces boulardii* and *lactobacillus lactis*; his statistical criterion of regression of SB has a better fit with an R2 value of 0.94; with a significance of 0.01 and 0.05 and in the microbial growth curve for *saccharomyces bulardii*; Log mathematical model Logistic had the highest value 0.293, the logistic model with a value of 0.260 And microbial growth curve *lactobacillus lactis*; the maximum concentration of growth (C) the Logistics model which presented the highest value with 2,861 then the Logistics model with a value of 2,556. Regarding the maximum growth speed (B), the model that presented a good fit was the Gompertz model and the starting speed to the exponential phase (M) the model that presented a good result was the logistic model followed by Gompertz .

Keywords: sourdough, physical properties, mathematical models and microorganisms.

## CAPITULO I

### I. EL PROBLEMA

En la actualidad la demanda de alimentos enriquecidos, ha adquirido con fuerza por la alimentación saludable, debido a que es considerado este como una forma de prevención y /o tratamiento de enfermedades (Prieto, Mouwen, López, & Cerdeño, 2008).

Por otro lado, el pan que se consume carece de muchos nutrientes ya que desde el proceso de molienda se retira el salvado de trigo una gran parte del germen componentes con valor nutritivo entre los cuales se destaca el niacina, vitamina E, el complejo vitamínico B, minerales como el selenio, Zinc. Durante el proceso 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, la adición de algunos componentes haciendo del pan actual un alimento de baja calidad. (Galindo, Medina, Sanchez, & Rodrigo, 2016).

El pan es uno de los alimentos de 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 entre otros, (Zuleta et al., 2012).

El presente proyecto propone la utilización de pre-fermentos y bacterias ácido lácticas, ya que el uso de pre-fermentos permitirá el desarrollo bioquímico de los microorganismos generando así metabolitos que pueda mejorar las características físicas y proximales de manera que se pueda evaluar el efecto que esta producirá en el pan (Galindo et al., 2016), Asimismo el uso de bacterias lácticas se pueda observar el desarrollo de estas, analizando el crecimiento de biomasa en la cual se podrá aplicar modelos matemáticos y así ver el comportamiento de estos; por otro lado analizar los metabolitos producidos por las bacterias que son directamente medidos en el pH, acidez, composición de macronutrientes, y asimismo físicas; como porosidad y volumen.

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar la cinética de crecimiento bacteriano (*Sacharomycyces boulardii*, y *Lactobacillus lactis*) en elaboración de pan de trigo. Los objetivos específicos son determinar el efecto del pre-fermento en las propiedades físicas y proximales en el pan de trigo, determinar la curva de crecimiento microbiano de *Sacharmcyces boulardii*, y *Lactobacillus lactis* en pre-fermentos y determinar la aceptación general del producto.

## CAPITULO II

### REVISIÓN DE LA LITERATURA

#### 1.1. Bases Teóricas

A continuación, se presenta las bases teóricas que sustentan la investigación sobre la evaluación del efecto pre-fermentos y bacterias ácido – lácticas (*Sacharmcyces boulardii*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacilus vulgaricus*) en la elaboración de pan de trigo.

Este estudio analiza el efecto de los pre-fermentos en 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 y 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 nueva 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).

## **1.2. Marco conceptual**

### **1.2.1. Definición de pan.**

Mesas & Alegre (2002) puntualizan que el pan es un producto perecedero por la cocción. La masa obtenida es de mezcla de harina de trigo, sal comestible y agua potable, fermentada por especies propias de la fermentación como *Saccharomyces cerevisiae*.

#### **1.2.1.1. Composición Proximal del pan**

Según Cauvain & Young (2007), el pan y otros productos que son a base de cereales se han convertido en alimentos "básicos" a nivel mundial; y se han establecido como parte de 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 (trigo integral) ya que requiere la conversión del 100% del grano en harina. En las harinas blancas la extracción es menor, la eliminación de algunos 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 en la dieta (Tabla 1).



Tabla 1.  
Composición del pan de 100 g.

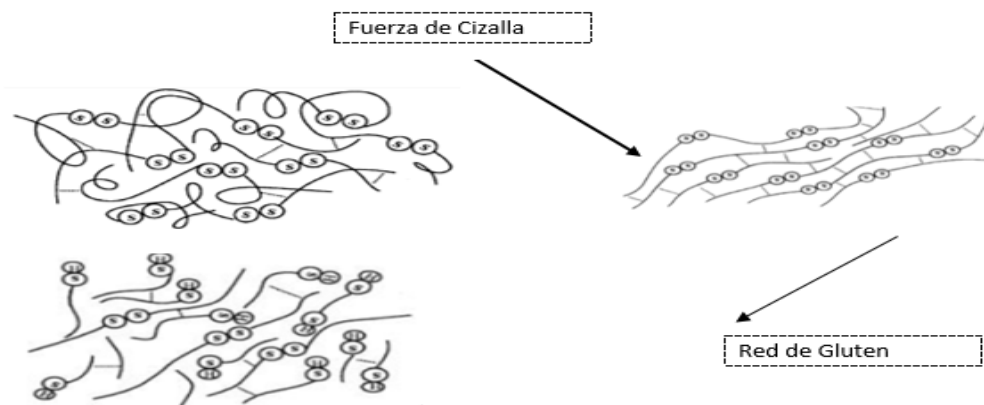
|                | <b>Blanco</b> | <b>Marrón</b> | <b>Integral</b> |
|----------------|---------------|---------------|-----------------|
| Carbohidratos  | 49.3          | 44.3          | 41.6            |
| Proteínas      | 8.4           | 8.5           | 9.2             |
| Fibra Dietaria | 2.7  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

*Fuente:* Cauvain & Young (2007)

## 1.2.2. Ingredientes

### 1.2.2.1. Harina de Trigo

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



**Figura 1.** Formación de red de gluten. Abang, Chin, & Yusof (2010).

El contenido de proteína en 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 trigo, mayor es el contenido de proteína de la harina producida. Cuanto mayor sea el contenido de proteína en la 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, los cambios que se han producido en los procesos de fabricación de masa, esta vista está desactualizada (Cauvain & Young, 2007).

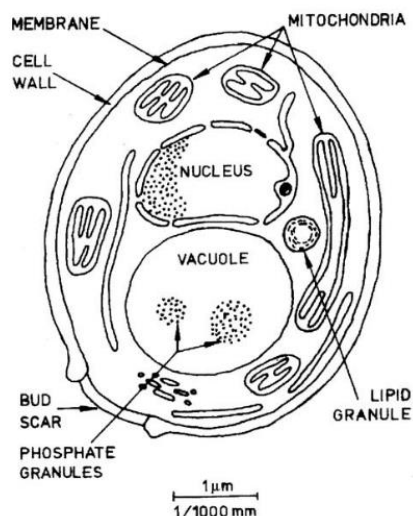
#### **1.2.2.2.Sal**

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

#### **1.2.2.3.Levadura.**

Se denomina levadura 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. Cauvain & Young (2007).

#### 1.2.2.4. Grasas.

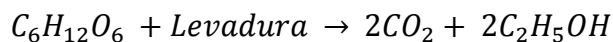
La adición de grasas (manteca, margarina, mantequilla, y en algunos casos aceite) tiene la finalidad de reblandecer la miga, obteniendo mejora en la calidad del pan y asimismo prolongando la vida útil del producto; estas sustancias mejoran las características de las masas, donde estas pueden estar distribuidas en finas capas de hilos de 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).

### **1.2.2.5. Azúcar**

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

Permite conservar más tiempo a pan por la propiedad higroscópica que también permite absorber humedad. Ayuda a dar rápida formación de la corteza del pan, debido a la caramelización por parte y a la reacción de Maillard; entre azúcares reductores (maltosa, dextrosa y levulosa) en las proteínas de harina; esto permite a las temperaturas de horno más bajas, rápida cocción y mayor cantidad de agua retenida en el producto final. Azúcar es el alimento para la levadura así ayudando en el metabolismo y así permitiendo la acción de las enzimas.

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



### **1.2.2.6. 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 en el sistema de la masa. Los 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 las propiedades físicas de los productos cocidos, además obtienen migas más flexibles, con alveolos más finos y uniformes (Tejero 2012).

Estos pueden reducir la variación de calidad de la harina y obtener un producto más homogéneo; además, los emulsionantes pueden mejorar las propiedades del producto horneado (volumen, estructura del pan, suavidad). Actúa como "lubricante" en la masa y mezcla bien los diferentes ingredientes. La masa de pan se puede pensar como un sistema muy complejo formado por diferentes emulsiones: partículas en suspensión, líquidos y gases, que deben formar un único sistema homogéneo. Los emulsionantes ayudan a formar la mezcla y, por lo tanto, pueden acelerar el proceso de fabricación (Castelli 2002). Algunos emulsionantes interactúan con el almidón, alteran la temperatura y la viscosidad de gelatinización y se unen a las amilasas en la harina. El efecto sobre la suavidad y conservación del pan es bien conocido. 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.

**a) Enzimas.** Las mezclas están disponibles para casi todas las aplicaciones, y cada una está diseñada para proporcionar una determinada función: los pentosanos agregan volumen y suavidad. Aumentan la absorción de agua y la tolerancia de la masa. Tanto las amilasas fúngicas como las bacterianas tienen efectos específicos sobre el pan y, en algunos casos, hacen que la masa se estire. La glucosa oxidasa hace que el pan sea más voluminoso y se une a la red de gluten. La lipasa es una enzima que suaviza las migas de pan. (Castelli, 2002).

**b) 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.

### **1.2.3. Requisitos mínimos de 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 físicos químicos.

| Producto  | Parámetro                                | Límites Máximos permisibles                             |
|---|--|---|
| <b>Pan Molde</b><br>(Blanco, integral y sus productos tostados)   | Humedad                                  | 40% - Pan de molde<br>6% - Pan tostado                  |
|   | Acidez<br>(expresada en ácido sulfúrico) | 0,5% (Base seca)  |
|   | Cenizas                                  | 4,0% (Base seca)  |
| <b>Pan Común o de labranza.</b><br>(Francés, baguette, y similares)   | Humedad                                  | 23% (min) – 35% (máx.)                                  |
|   | Acidez<br>(expresada en ácido sulfúrico) | No más del 0,25% calculado sobre la base de 30% de agua |
| <b>Bizcochos y similares con y sin relleno</b><br>(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 Norma NTN 209.134, 1988

Tabla 3.  
Criterios microbiológicos

| 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<br>/25 g | -               |
| Bacillus cereus (***)        | 8         | 3     | 5 | 1 | 10 <sup>2</sup>   | 10 <sup>4</sup> |

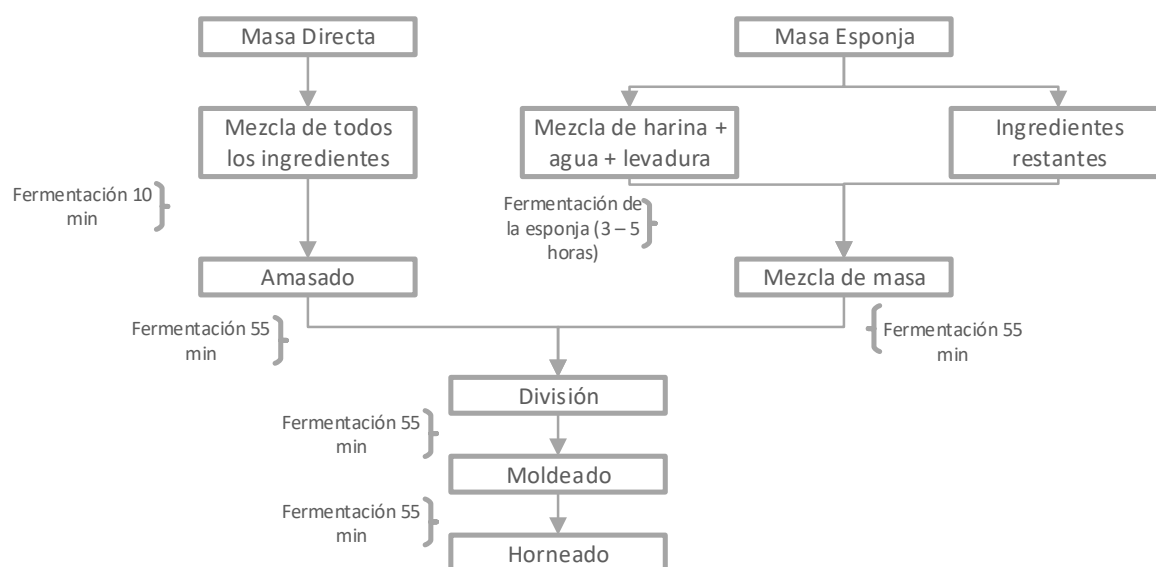
Nota: (\*) Para productos con relleno; (\*\*) Adicionalmente para productos con rellenos de carne y/o vegetales; (\*\*\*) Para aquellos con harina de arroz y/o maíz. (Dirección General de Salud Ambiental, 2011)

#### 1.2.4. Pre-fermento

Quintero & Rueda (2008) mencionan que Existen varios métodos de elaboración del pan, la principal diferencia es el método de elaboración de la masa, entre ellos: método directo, método de elaboración rápida, método de desarrollo mecánico y masa esponja, este último es el más utilizado en la industria porque permite una mejor reología de la masa. ,

proceso controlado, buen desarrollo de la masa final y productos 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, Nip, Nollet, Paliyath, & Simpson, 2007). Sin embargo; los principales métodos utilizados para preparar el pan se resumen en la Figura 3.



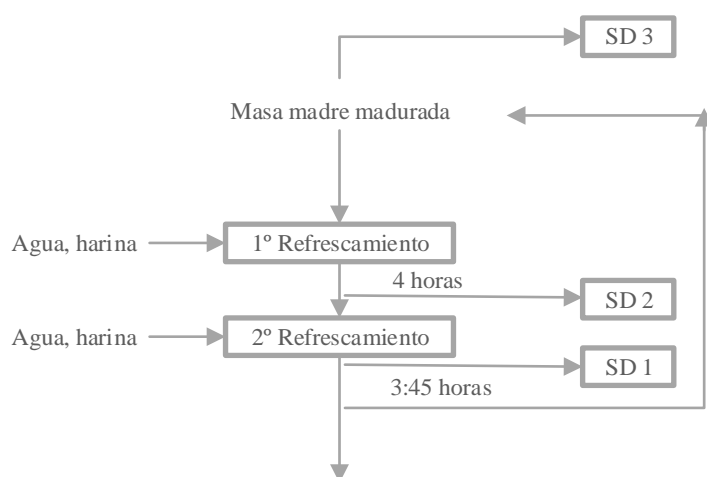
**Figura 3.** Métodos de procesamiento de pan

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 la masa se amasa para desarrollar la masa. estructura. 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 pre-fermentos o llamados masas madres, donde los componentes básicos son agua y harina de trigo o centeno, el procedimiento de elaboración de este pre-fermento 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.

### 1.2.5. 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, microaerófilos 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, Rosas, Velázquez, Ulloa, & Arce, 2011).

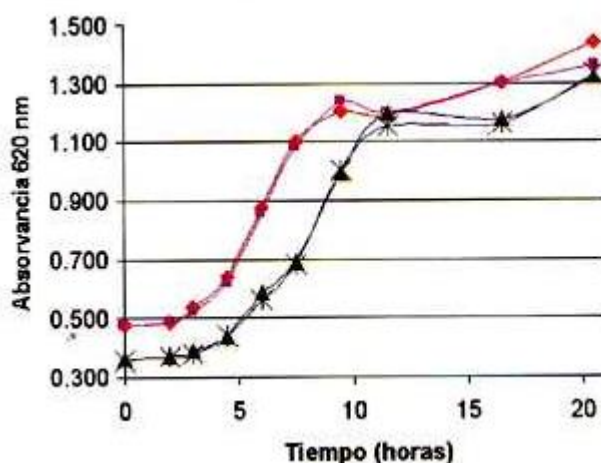
#### **1.2.5.1. Saccharomyces boulardii**

*Saccharomyces boulardii* es considerado como un 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 Muestra que se aisló de la corteza del árbol itchee en Indochina, y no se usó en Francia para tratar un caso de diarrea hasta principios de la década de 50. (McFaland y Bernasconi, citado por De llanos R. 2007).



**Figura 5.** Visión microscópica de *Saccharomyces boulardii*. 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. Se desarrolla a una temperatura de 37°C.



**Figura 6.** Crecimiento microbiano de *Saccharomyces boulardii*. Acevedo G., Romero O., & Espejo T., (2004)

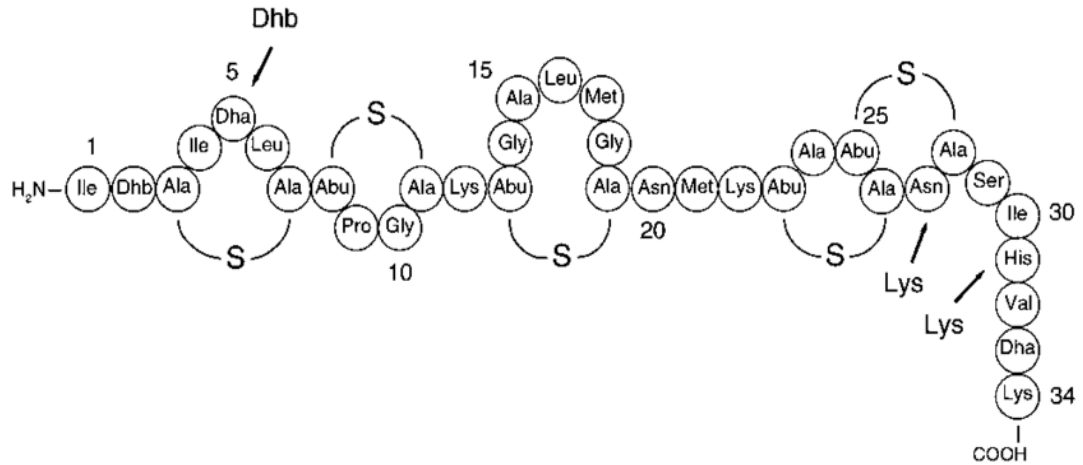
Existe comercialmente en una preparación viable liofilizada (deshidratada en congelación); es la única levadura con la que se han hecho estudios doble ciego. La *Saccharomyces boulardii* es diferente de la levadura del pan *Saccharomyces cerevisiae* en varios parámetros taxonómicos, metabólicos y moleculares; 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).

#### **1.2.5.1.1. 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).

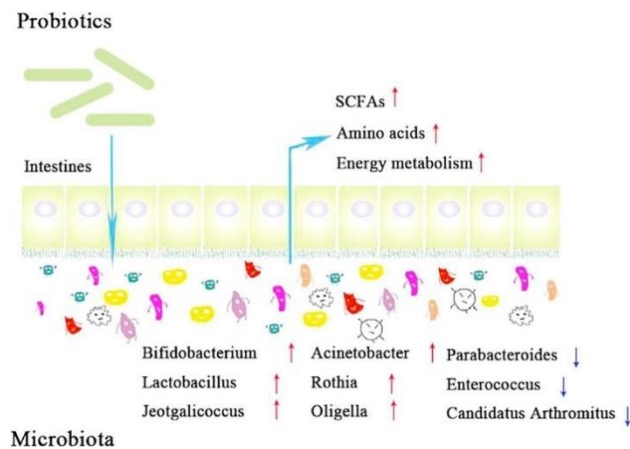
#### **1.2.5.2.Lactobacillus Lactis**

*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 del nisina. (Rollema, Kuipers, Both, De Vos, & Siezen, 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 lactobacilus lactis en el intestino.

### **1.2.6. Crecimiento bacteriano**

El crecimiento bacteriano 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.

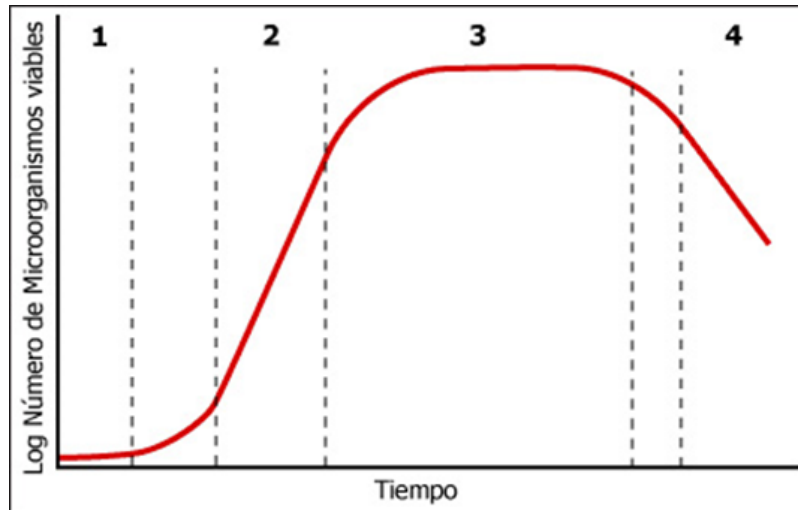
#### **1.2.6.1.Crecimiento microbiano en medio líquido**

Si las bacterias crecen en un medio líquido, en la mayoría de los casos, las células producidas durante cada división continuarán su vida de forma independiente, formando una suspensión de células libres. (Puerta, C. J., & Ureña, C. P. 2005).

Además de tener condiciones óptimas de temperatura, pH, aireación y agitación, esto se puede demostrar en un medio que proporciona todos los requerimientos de nutrientes de los microorganismos. (Buitrago y Escobar, 2009 p. 75). A su vez, esto se expresa en función del crecimiento logarítmico de 0000 en función del tiempo. (Figura 9).

**Figura 9.**

Curva de crecimiento típica de una levadura



**Figura 9.** curva de crecimiento típica de a levadura. Buitrago y Escobar 2009. Aplicación de levadura *Cándida* SPP como una alternativa viable para la retardación en la pudrición del banano (*Musa acuminata*).

- **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).

- **Fase de crecimiento exponencial.**

Esta fase generalmente se considera que es el período anterior al estado de crecimiento exponencial, en la mayoría de los casos la duración es corta y la fase de adaptación se divide en dos partes. Buitrago y Escobar, (2009).

- **Fase estacionaria.**

Durante este período, el porcentaje de crecimiento comenzó a disminuir y finalmente el número de células comenzó a estabilizarse. El número de células muertas es igual al número de células formadas, en un estado de equilibrio (Cook, por Buitrago y Escobar, 2009).

- **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).

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

Las etapas, los parámetros y la cinética de crecimiento discutidos para cultivos líquidos también se aplican a cultivos sólidos. En este contexto, la cinética de crecimiento se puede estudiar mediante el seguimiento de la evolución del número de células viables por unidad de área o por unidad de masa.

Cuando una célula fija aislada comienza a crecer en un sustrato sólido, el resultado del crecimiento a lo largo del tiempo es una colonia y, por lo tanto, una célula bacteriana viva y aislada en condiciones controladas, denominada unidad formadora de colonias (UFC). Condiciones propicias para la producción de colonias en un corto período de tiempo. Si es el número inicial de bacterias por unidad de área de colonia, el resultado cuando se cultiva en la placa de prueba se llama césped.



En el caso de microorganismos móviles (resbaladizos) o del hongo filamentoso que tienen un crecimiento trófico no se producen colonias aisladas sino formaciones más difusas o miceliales. (Puerta, C. J., & Ureña, C. P. 2005).

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

Según McMeekiny et al (1993), la aplicación de modelos matemáticos para describir el crecimiento microbiano en los alimentos ha progresado significativamente en los últimos años. Dos factores principales han impulsado el creciente interés en los modelos predictivos en microbiología alimentaria. El primero fue el aumento significativo de las intoxicaciones alimentarias en la década de 1980, lo que llevó a una mayor conciencia de las demandas de una alimentación sana y segura en la opinión pública. El segundo es el reconocimiento de que los métodos microbiológicos tradicionales y muchos de los métodos "rápidos" utilizados para determinar la calidad y la inocuidad de los alimentos están limitados por los requisitos de tiempo para obtener resultados, con poco impacto en los valores previstos. (Buchanan, Garza, 1996).

El modelado microbiano es una herramienta invaluable para predecir el crecimiento microbiano o la supervivencia en la industria alimentaria. Por tanto, estos modelos pueden aportar información muy útil para determinar la higiene y vida útil de un producto, pudiendo estimar el riesgo potencial de crecimiento de patógenos en un alimento tras ser almacenado en unas condiciones específicas durante un periodo de tiempo, o establecer una fecha. por el cual se estima que alcanzará el deterioro de un producto o una población microbiana determinada El tiempo que lleva determinar la fecha de caducidad del producto (Garza, 1996).

### **1.2.7.1. Modelos primarios.**

El modelo primario describe los cambios en las poblaciones microbianas en función del tiempo (crecimiento, supervivencia, inactivación). Cualitativamente, pueden incluir unidades formadoras de colonias (ufc), biomasa, medidas de absorbancia y niveles de sustratos o metabolitos producidos (Geeraerd et al., 2004).

Muchos de los principales modelos desarrollados hasta la fecha son modelos de población deterministas. En estos modelos, la evolución del número total de células en una población se describe mediante un conjunto simple de parámetros (densidad máxima de población, tasa de crecimiento específica, latencia) (Sswinnen et al., 2004).

Entre los modelos de existencia poblacional podemos mencionar el modelo de (Buchanan et al, 1997), el cual es un modelo lineal trifásico que describe una curva de crecimiento clásica en tres partes (latente, exponencial y estacionaria).

### **1.2.7.2. Modelos secundarios**

El modelo secundario caracteriza los parámetros que pueden aparecer en el modelo primario en función de las condiciones del medio (temperatura, pH, actividad del agua, etc.). Permiten considerar cómo interactúan dos o más factores en el crecimiento microbiano.

En el pasado, los modelos secundarios de tiempo de retraso incluían solo los efectos del entorno de incubación. Hoy en día, están surgiendo más modelos que incluyen otros factores relevantes, como las condiciones de preincubación. Estos modelos se pueden dividir en dos partes:

- 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).

### **1.2.7.3. Modelos terciarios**

Un modelo terciario puede tomar varias formas, comenzando con una combinación de los dos primeros modelos de nivel basados en experimentos de laboratorio ( por ejemplo, el “Pathogen Modeling Program”, creado y puesto a disposición de la comunidad científica gratuitamente por la USDA); versiones más amplia incluida la la importación de historiales de temperatura para predecir la probabilidad vida útil remanente para un organismo deterioro en particular, como es el caso del “Seafood 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).

### **1.2.8. Cinética microbiana**

La microbiología predictiva se basa en el desarrollo de modelos matemáticos que permiten predecir la tasa de crecimiento de los microorganismos bajo determinadas condiciones ambientales (Fornaris & Cárdenas, 2001). Algunos de los principales factores que afectan el crecimiento de microorganismos en los alimentos son la temperatura y el

pH, los cuales deben ser tenidos en cuenta para lograr un cierto efecto predictivo. La aplicación del modelo matemático se lleva a cabo en dos etapas principales:

- a) Modelado de la curva de crecimiento del microorganismo
- b) Descripción de la variación de los distintos parámetros que afectan a dicha curva.

Estas curvas se ajustan y sus parámetros se derivan usando programas computacionales (Buchanan, 1991).

El empleo de modelos matemáticos permite así, cuantificar y predecir el desarrollo microbiano con el objeto de asegurar la calidad de un alimento.

#### **1.2.8.1. Cinética de crecimiento de un cultivo discontinuo**

Según Puerta & Ureña (2005) estudios sobre la cinética de crecimiento de microorganismos cultivados de forma aislada que no forman ningún tipo de estructura. Esta es la forma de crecimiento de levaduras (hongos unicelulares) y bacterias. Comprender la cinética de crecimiento de los cultivos microbianos es importante para predecir cómo evolucionarán los cultivos, cómo se consumirán los sustratos y cómo se acumularán los cultivos. Sería muy imprudente iniciar un cultivo en un fermentador de 10.000 litros sin conocer estos factores, por ejemplo, tendría un costo ya que no podemos predecir qué sucederá, cuándo se completará el crecimiento, cómo cultivar el producto, etc. Las células aisladas cultivadas en un volumen del medio apropiado utilizan sus nutrientes disponibles de la manera más eficiente y rápida posible, sintetizando sus propios componentes celulares y dividiéndose en cuanto han podido duplicar su masa y su material genético. El tiempo que tarda una célula en hacer todo lo anterior es lo que

conocemos como tiempo de generación ( $\tau$ ) y puede variar desde unos 20 minutos en condiciones óptimas hasta varios meses en condiciones del suelo. Cada vez que transcurre un tiempo de generación, el número de células se duplica, siguiendo, por tanto, un incremento exponencial.

#### **1.2.8.2. Cinética de crecimiento en un cultivo continuo.**

Según Puerta & Ureña (2005) en cultivo continuo, los microorganismos mantienen un crecimiento continuo debido a la adición constante de medio fresco (aportando nuevos nutrientes) y la eliminación de cultivo (medio usado que contiene los microorganismos correspondientes) a la misma velocidad. Mantener constante el volumen total de cultivo. Los cultivos continuos son importantes para el manejo de microorganismos en crecimiento para que puedan producir continuamente el producto de interés (biomasa, metabolitos secundarios, etc.). Este tipo de cultivo también es importante en estudios de fisiología y ecología microbiana. En la naturaleza, un ejemplo de cultivo continuo es el rumen de algunos animales y un conjunto de procesos microbianos intestinales en todos los animales. En cultivo continuo, el objetivo es mantener un ambiente constante a lo largo del tiempo de cultivo. Esto es imposible en un cultivo estanco en el que los nutrientes se van consumiendo progresivamente y el medio se va cargando de productos de desecho.

### **1.3. Antecedentes**

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

Flores & Chavez (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*.

#### **1.3.2. 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  $\alpha$  – 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, Velásquez, Morales, & Martínez, 2014).

## **1.4. Hipótesis**

### **1.4.1. Hipótesis general**

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

### **1.4.2. 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.

## **1.5. Identificación de variables e indicadores**

El presente estudio contemplará 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, porosidad. (Tabla 4) con niveles de medición de intervalo.

Tabla 4.  
Variables de estudio

| <b>Variab</b> les | <b>Descripción</b>  |
|-------------------|---|
| Independientes    | Pre-fermento: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Masa Poolish</li> <li>• Masa Esponja</li> </ul>                                    |
|                   | Microorganismos: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Sacharmcyces 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>• Porosidad</li> </ul>         |

## 1.6. Operacionalización de Variables

Se trabajará con dos variables independientes para cual cada una de ellas se detalla de la siguiente manera.

### 1.6.1. Variable pre-fermento

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 composición del pan (proteínas) y propiedades organolépticas (olor, color, sabor, textura).

### 1.6.2. 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 III

### II. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1. Materia prima

##### 2.1.1. El pre-fermento.

Para el pre-fermento se utilizará harina de trigo integral si refinación obtenida de la molienda de grano que será adquirida en el INIA – Puno.

##### 2.1.2. Bacterias lácticas

Las cepas bacterianas serán obtenidas en caso de *Saccharomyces boulardii* de farmacias en sobre de 500 mg; con respecto a los restantes será adquiridos cepas que son destinadas al procesamiento de leche.

#### 2.2. 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
- Balanza analítica marca Pioner
- Espectrofotómetro Genesys
- Potenciómetro SI Analytics
- Autoclave Sturdy
- Mufla Nabertherm

### **2.3. Reactivos**

- Hidróxido de sodio
- Ácido Sulfúrico
- Ácido Clorhídrico
- Fenolftaleína

### **2.4. Metodología**

#### **2.4.1. Ámbito de estudio**

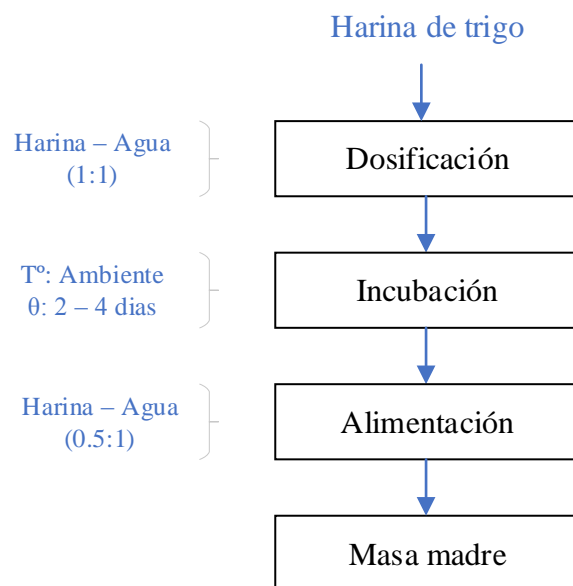
El presente proyecto de investigación será desarrollado en las instalaciones del centro de Investigación de Tecnología de Alimentos (CITAL), Centro de aplicación panadería “SUPERBUENO” de Ingeniería de Industrias Alimentarias de la Universidad Peruana Unión – Filial Juliaca.

#### **2.4.2. Tipo de investigación**

El presente proyecto 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.

## 2.5. Elaboración de los pre-fermentos

### 2.5.1. Masa madre



**Figura 10.** Flujograma de elaboración de masa madre.

#### 2.5.1.1. Descripción del flujograma de elaboración de masa madre

Combine los ingredientes y déjelos reposar durante 24 horas, en un frasco de vidrio con tapa hermética. Revuelva en el Mañanas y tardes El arranque está listo cuando la mezcla comienza a burbujear. A partir de este momento, todo lo que tienes que hacer es "Alimentar" la masa para que conserve su sabor y capacidad de fermentar (Söderin & Strachal, 2014).

## **2.6. Elaboración de pan de trigo**

El pan de trigo se elaboró con los respectivos ingredientes; trigo, levadura, azúcar, manteca y sal. Se procedimiento será manual.

## **2.7. Cepas de bacterias lácticas y cultivos in vitro**

Se utilizó cepas liofilizadas de *saccharomyces boulardii* presentes en medicamentos como floratil; asimismo las cepas heterofermentativas se obtendrán de cepas de *Lactobacillus Lactis* a partir de cultivos lácticos para la elaboración de la masa madre

## **2.8. Determinación de propiedades físicas**

### **2.8.1. Porosidad**

El método se basa en el estudio de (Ramirez et al., 2010). Donde selecciona al azar muestras de alimentos las cuales son seccionadas finamente, el procedimiento define un área de muestreo de un determinado tamaño, las imágenes son seleccionadas al azar y por medio de un algoritmo digitalizado en el Software MATLAB R2013a., las imágenes son procesadas y segmentadas donde una imagen a color (original) será convertida bidimensionalmente de una escala de grises luego a una escala blanco y negro. Los resultados se hallan aplicando la siguiente formula que es insertado al programa MATLAB R2013a.

## 2.9. Determinación de la composición proximal

### 2.9.1. Humedad.

Se determinó mediante el método AOAC 14004, se tuvo una muestra de 2 g, Se secó la muestra en su respectivo crisol en el horno a  $130 \pm 3^\circ\text{C}$  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:

$$\% \text{ de Humedad} = \frac{\text{Pérdida de Peso}}{\text{Peso}} \times 100$$

### 2.9.2. Ceniza

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

$$\% \text{ Ceniza} = \frac{C3 - C1}{C2 - C1} \times 100$$

Donde:

C1 = masa del crisol vacío en gramos.

C2 = Masa del crisol con la muestra en gramos.

C3 = masa del crisol con las cenizas en gramos.

### 2.9.3. Proteína

Para la determinación de la proteína se aplicó el método Kjeldahl que consta de tres partes (digestión, destilación y titulación).

### 2.9.4. Grasa

Para la determinación de la grasa se aplicó el método de hidrólisis ácida, donde los ácidos son hidrolizados y retenidos, posteriormente la grasa es extraída con una mezcla de éter, el cual es evaporado y la grasa es determinado directamente, el contenido de grasa se obtiene con la siguiente expresión:

$$\% \text{ de grasa} = \frac{\text{Peso del recipiente y grasa} - \text{peso del recipiente}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

### 2.9.5. Fibra

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

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

Donde:

$P_s$  = masa en gramos del residuo seco a 130 °C

$P_p$  = masa en gramos del papel filtro

$P_{cp}$  = masa en gramos de las cenizas del papel

$M$  = Masa de la muestra en gramos

$P_c$  = masa en gramos de las cenizas

## 2.10. 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 2; 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 5.  
Modelos matemáticos de crecimiento microbiano.

| Modelo        | Expresión  |
|---------------|--|
| Gompertz      | $N=N_0+C*\exp(-\exp(-B*(t-M)))$  |
| Logístico     | $N=N_0+C/(1+\exp(-B*(t-M)))$   |
| Log-logístico | $\log(N) = N_0 + \frac{A}{1+\exp\{-B*(t-M)\}} - \frac{A}{1+\exp(B*M)}$             |
| weibull       | $\left(\frac{N}{N(0)}\right) = 10^{\left(-\left(\frac{t}{\delta}\right)^p\right)}$ |

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, Giannuzzi, Noia, & Zaritzky, 2001).

**Modelos gompertz.** Este modelo asume que la tasa de crecimiento postnatal se incrementa mono tónicamente hasta cuando alcanza su máximo y después decrece en forma monótona asintóticamente.

**Modelo logístico** la curva logística es descrita por una curva sigmoide simétrica, que describe el crecimiento como más lento al comienzo al final un periodo tiempo entregado donde los parámetros del modelo representan los mismos significados.

**Modelo loglogístico** es para corregir una falla del modelo logístico, donde da ajuste del modelo, no parte del punto de origen y fue propuesta por Corradini y peleg (2005).

**Modelo weibull** este modelo es la técnica mayormente escogida para estimar una probabilidad basada en datos medidos o asumidos.



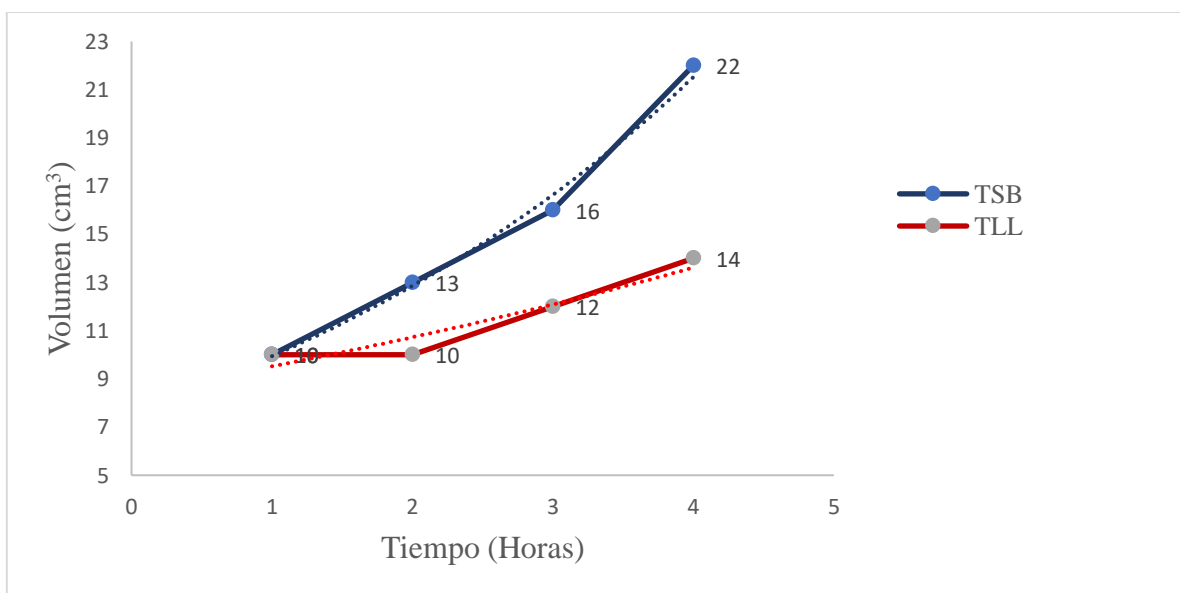
## CAPITULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 4.1. propiedades físicas

##### 4.1.1. Análisis de volumen pH y acidez en la masa

En la figura 9 se aprecian las curvas del incremento de volumen de la masa en función al tiempo (cuatro horas) en ella se puede apreciar un mayor incremento de masas en tratamiento de *Saccharomyces boulardii*. La masa de harina de trigo y *Lactobacillus lactis*, después de dos horas ahí un incremento de volumen muy moderadamente.



**Figura 11.** Análisis de volumen en la fermentación de las masas, TCB: Trigo con *saccharomyces boulardii*; TLL: trigo con *Lactobacillus lactis*

León et al. (2006), en su artículo de bacterias ácido lácticas silvestres de Colombia muestra que, al influir en el volumen de las masas, los metabolitos de la harina que es consumido el sustrato, y en el cual hay una formación de CO<sub>2</sub> dando como resultado incremento en el volumen de las masas. Siepmann, Sousa, Waszczyński, & Spier, (2019) encontraron que,

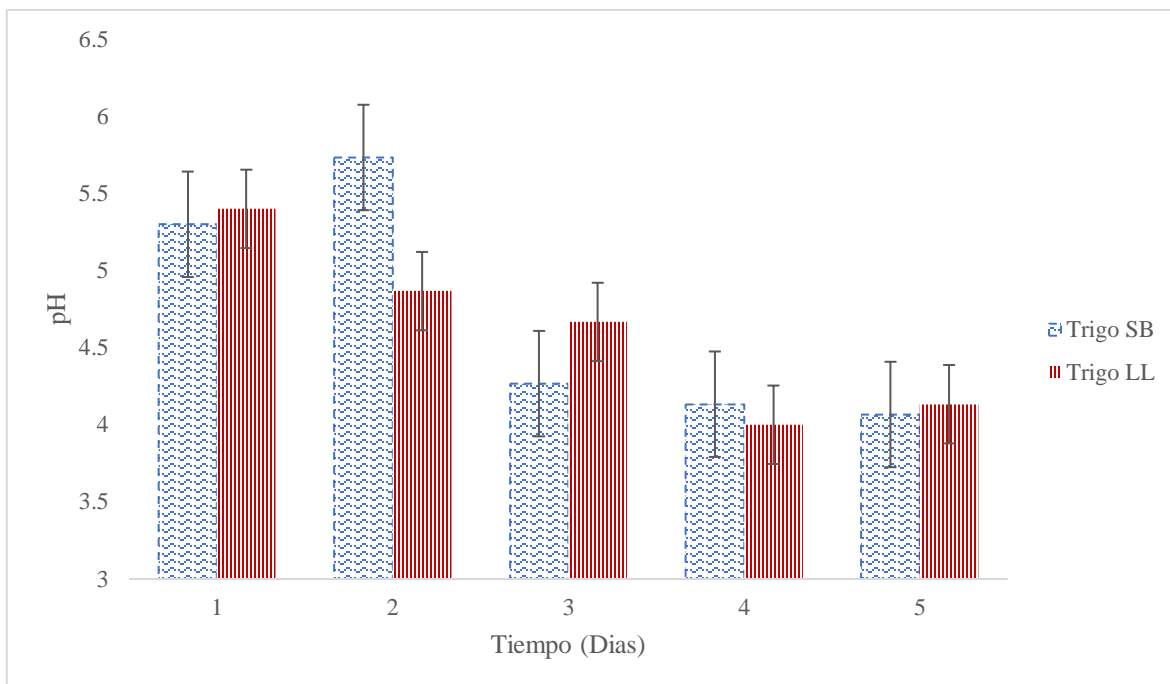
las bacterias lácticas pueden incrementar el volumen de las masas hasta cierto punto luego estas empiezan a desestabilizarse ocasionando leves disminuciones corroborando lo hallado en el experimento; Según, Fennema (2000), atribuye este fenómeno a la acción bioquímica del microorganismo, estos consumen los carbohidratos presentes generados una mezcla de fase donde se resalta el estado sólido.

En la tabla 6 se muestra estadísticos de la regresión de ajuste de cada tratamiento, se aprecia que el tratamiento de trigo SB tiene un mejor ajuste a comparación del tratamiento LI, con un valor de  $R^2$  de 0.94; por otro con respecto al análisis de varianza se puede apreciar que los datos obtenidos tienen significancia, asimismo, se aprecia que los experimentos tienen una distribución normal.

Tabla 6.  
Criterios estadísticos de la regresión

| <b>Estadísticas de la regresión</b>                | <b>Trigo Sb</b> | <b>Trigo LI</b> |
|--|-----------------|-----------------|
| <b>Coefficiente de correlación múltiple</b>        | 0.98            | 0.94            |
| <b>Coefficiente de determinación R<sup>2</sup></b> | 0,96            | 0.89            |
| <b>R<sup>2</sup> ajustado</b>                      | 0.94            | 0.83            |
| <b>Desviación estándar</b>                         | 1.16            | 0.77            |
| <b>Pendiente (m)</b>                               | 3.9             | 1.4             |
| <b>Constante (b)</b>                               | 5.5             | 8               |
| <b>Valor p</b>                                     |                 |                 |
| <b>Tiempo</b>                                      | 0.01            | 0.05            |
| <b>Intercepción</b>                                | 0.06            | 0.01            |
| <b>Durbin Watson</b>                               | 2.23            | 2.23            |

La figura 12, muestra el monitoreo de pH de las masas con respecto al tiempo en ella se puede apreciar que en ambas masas este descendió a valores aproximados de 4.0 a 4.5, siendo la masa de trigo con *Saccharomyces boulardii* con el valor más bajo de 4.0 y la masa con *Lactobacillus lactis* con un valor de 4.1, presentando ligeras diferencias.

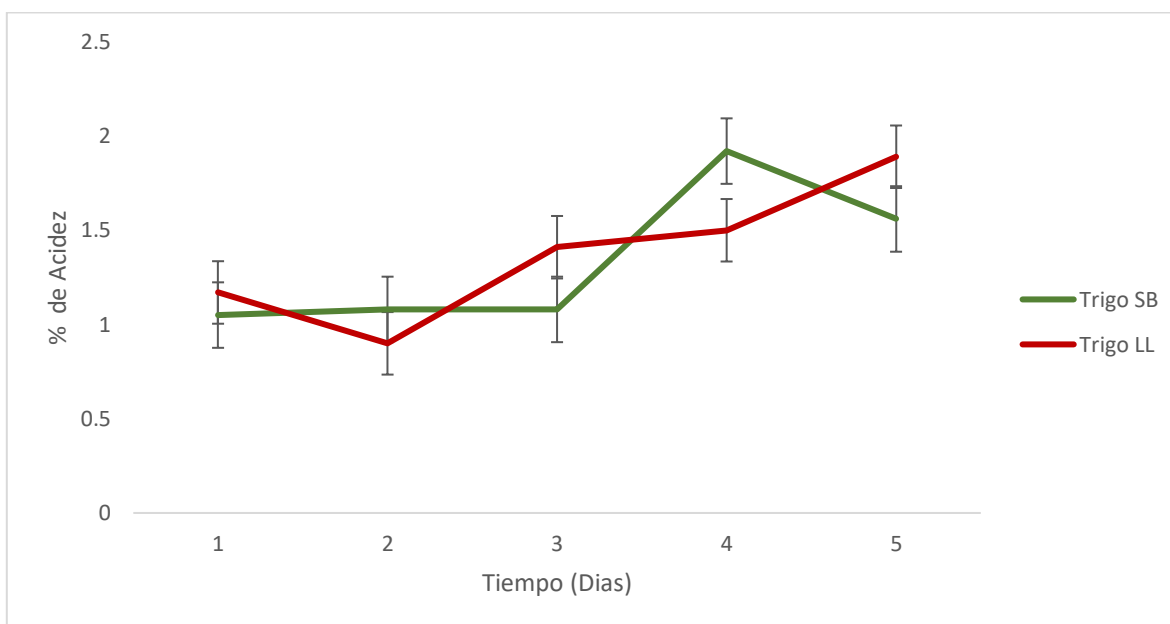


**Figura 12.** Monitoreo de pH

Este comportamiento del descenso del pH con respecto al tiempo concuerda con lo hallado por León et al., (2006), ya que en su investigación mostro que este valor puede descender a valores incluso de 3.88 siendo este inferior al valor encontrado en las masas estudiadas, asimismo, Betancourt, Ayala, & Ramírez, (2014), en su estudio de fermentación de masas de maíz con bacterias lácticas hallo pHs inferiores a 4.0 siendo estos inferiores a los hallados en nuestro estudio para ambas cepas por otro lado para (Pascual & Zapata, 2010) este pH se encuentra en el rango ideal para la elaboración de pan.

Asimismo, la figura 11 muestra el monitoreo del porcentaje de acidez en ella se puede apreciar que la masa de trigo con *Lactobacillus lactis* presento el valor más alto en comparación a la masa con *Saccharomyces boulardii*, asimismo, en el gráfico se puede

apreciar que ambas pruebas presentan pendiente positiva mostrando así un incremento de la acidez con respecto al tiempo.



**Figura 13.** Monitoreo del porcentaje de acidez.

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*.

#### **4.1.2. Análisis físico y proximal del pan**

La tabla 7 muestro los resultados de los análisis físicos de los panes obtenidos de cada tratamiento en ella se puede que el pan fermentado con *Lactobacillus lactis* presento mayor peso con un valor de  $42.49 \pm 1.38$  en contraste a pan fermentado con *Saccharomyces*

boulardii, con respecto al volumen se encontró que el pan fermentado con *Saccharomyces boulardii* fue mayor al de *Lactobacillus lactis*, lo mismo con el volumen específico, por otro lado, en el análisis de densidad el pan fermentado con *Lactobacillus lactis*, presentó el mayor valor, con respecto al pH ambos tratamientos presentaron el mismo valor, sin embargo, con respecto al porcentaje de acidez el tratamiento con *Saccharomyces boulardii* fue superior al tratamiento con la otra cepa, con respecto al análisis estadístico se puede apreciar que existe diferencia entre muestras en todos los parámetros físicos a excepción del volumen.

Tabla 7.  
Propiedades físicas del pan

| Tratamiento       | Peso                      | Volumen (cm <sup>3</sup> )  | Volumen específico (cm <sup>3</sup> /g) | Densidad (g/ml) | pH | % de Acidez  |
|-------------------|---------------------------|-----------------------------|---|-----------------|----|--------------|
| <b>Trigo SB</b>   | 37.38 ± 0.44 <sup>a</sup> | 111.66 ± 12.58 <sup>a</sup> | 2.98 ± 0.30 <sup>a</sup>                | 0.33 ± 0.03     | 6  | 0.15 ± 0.001 |
| <b>Trigo LL</b>   | 42.49 ± 1.38 <sup>b</sup> | 86.66 ± 7.63 <sup>a</sup>   | 1.48 ± 0.04 <sup>b</sup>                | 0.46 ± 0.03     | 6  | 0.11 ± 0.002 |
| Estadísticos      |                           |                             |   |                 |    |              |
| <b>P – Valor</b>  | 0.026                     | 0.060                       | 0.013                                   | 0.006           | -  | 0.000        |
| <b>Normalidad</b> | 0.276                     | 0.885                       | 0.092                                   | 0.642           | -  | 0.017        |
| <b>Levene</b>     | 0.264                     | 0.538                       | 0.161                                   | 1.000           | -  | 0.643        |

Nota: <sup>a,b</sup> Las pruebas que no comparten letras son diferentes significativamente

Para Zhang, Huang, Ananingsih, Zhou, & Chen (2014), las propiedades físicas son muy importantes entre los cuales se puede destacar el volumen específico, con valores de 2.5 a 3.75 cm<sup>3</sup>/g, para un pan elaborado con *Bifidobacterium lactis* Bb 12, cuyo reporte se asemeja a lo encontrado con el pan tratado con *Saccharomyces boulardii*, con un valor de 2.98 cm<sup>3</sup>/g, asimismo, el valor encontrado con *Lactobacillus lactis* fue inferior a este, por otro lado, los valores del porcentaje de acidez con inferiores a los hallados por Montanari et al. (2014).

La tabla 8 muestra los resultados de la composición proximal de los tratamientos en el que se puede apreciar que la humedad en el tratamiento con *Saccharomyces boulardii* presento un valor superior con un porcentaje de  $22.83 \pm 1.14$ , por otro lado, los valores de la ceniza son similares, siendo ligeramente superior el tratamiento con *Lactobacillus Lactis* con un valor promedio de 1.18, respecto a la grasa el tratamiento con *Lactobacillus lactis*, presento el mayor valor con  $16.69 \pm 1.26$ , con respecto a los demás componentes (fibra, proteína y carbohidratos) los valores mostrados fueron similares entre tratamientos.

El análisis estadístico muestra que existe diferencia estadística en algunos de los parámetros estudiados como cenizas y grasas en contraste a los demás que no cuentan con diferencia estadística, por otro lado, la normalidad muestra que los datos a excepción de la fibra están normalmente distribuidos, asimismo, la prueba de leven nos muestra que los datos analizados muestran que existe una buena homogeneidad de varianza .

Tabla 8.

Características proximales de los tratamientos de pan de trigo con *Saccharomyces boulardii* y *Lactobacillus lactis*

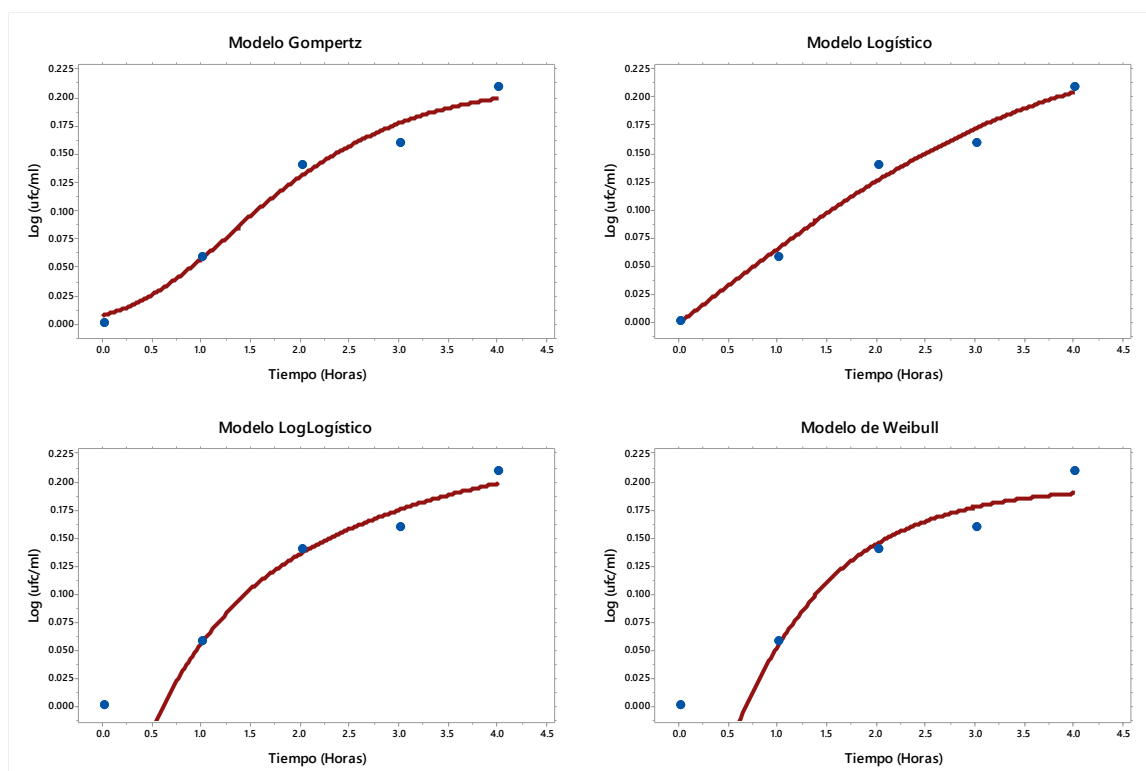
| <b>Tratamiento</b>  | <b>Humedad (%)</b>        | <b>Cenizas (%)</b>        | <b>Grasa (%)</b>          | <b>Fibra (%)</b>          | <b>Proteína (%)</b>      | <b>Carbohidratos (%)</b>  |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| <b>Trigo SB</b>     | 22.83 <sup>a</sup> ± 1.14 | 1.02 <sup>b</sup> ± 0.024 | 13.06 <sup>b</sup> ± 0.07 | 2.09 <sup>a</sup> ± 0.023 | 8.50 <sup>a</sup> ± 0.04 | 52.50 <sup>a</sup> ± 1.30 |
| <b>Trigo LL.</b>    | 19.16 <sup>a</sup> ± 3.08 | 1.18 <sup>a</sup> ± 0.004 | 16.69 <sup>a</sup> ± 1.26 | 2.10 <sup>a</sup> ± 0.01  | 8.23 <sup>a</sup> ± 0.15 | 52.64 <sup>a</sup> ± 0.52 |
| <b>Estadísticos</b> |                           |                           |                           |                           |                          |                           |
| <b>P – Valor</b>    | 0.193                     | 0.003                     | 0.038                     | 0.40                      | 0.095                    | 0.878                     |
| <b>Normalidad</b>   | 0.344                     | 0.169                     | 0.161                     | 0.000                     | 0.4300                   | 0.903                     |
| <b>Levene</b>       | 0.303                     | 0.934                     | 0.132                     | 0.390                     | 0.229                    | 0.328                     |

Nota: <sup>a,b</sup>Los tratamientos que comparten letras son estadísticamente similares

## 4.2. Curva de crecimiento microbiano

### 4.2.1. Curva de crecimiento microbiano de *Saccharomyces boulardii*

En la figura 14 se muestra la cinética las curvas de crecimiento microbiano para *Saccharomyces boulardii*, en ella se puede apreciar que el mejor ajuste de los datos los presenta la cinética por el modelo de Gompertz, seguido del modelo logístico, en contraste los modelos logísticos modificado y Weibull no presentan un buen ajuste.



**Figura 14.** Curva de crecimiento microbiano para *Saccharomyces boulardii*.

Para Solano & Vidaurre (2017), el modelo cinético de Gompertz por su característica sigmoideal presenta mejores curvas de cinética en contraste a otros modelos ya que es de tipo logístico, esto se debe a que Gompertz es un modelo flexible siendo este un modelo dinámico en el sentido que puede interactuar con diferentes factores extrínsecos con respecto al tiempo.

La tabla 9 muestra los parámetros cinéticos de crecimiento en la que se puede apreciar que con respecto a la concentración máxima de crecimiento (C) el modelo de Log Logístico presenta el



mayor valor con 0.293, seguido del modelo Logístico con un valor de 0.260, sobre la velocidad máxima de crecimiento (B), el modelo que presento un buen ajuste fue el modelo de Gompertz y con respecto a la velocidad de arranque a la fase exponencial (M) el modelo que presento un buen resultado fue el modelo logístico seguido de Gompertz.

Tabla 9.  
Parámetros cinéticos de crecimiento de *Saccharomyces boulardii*

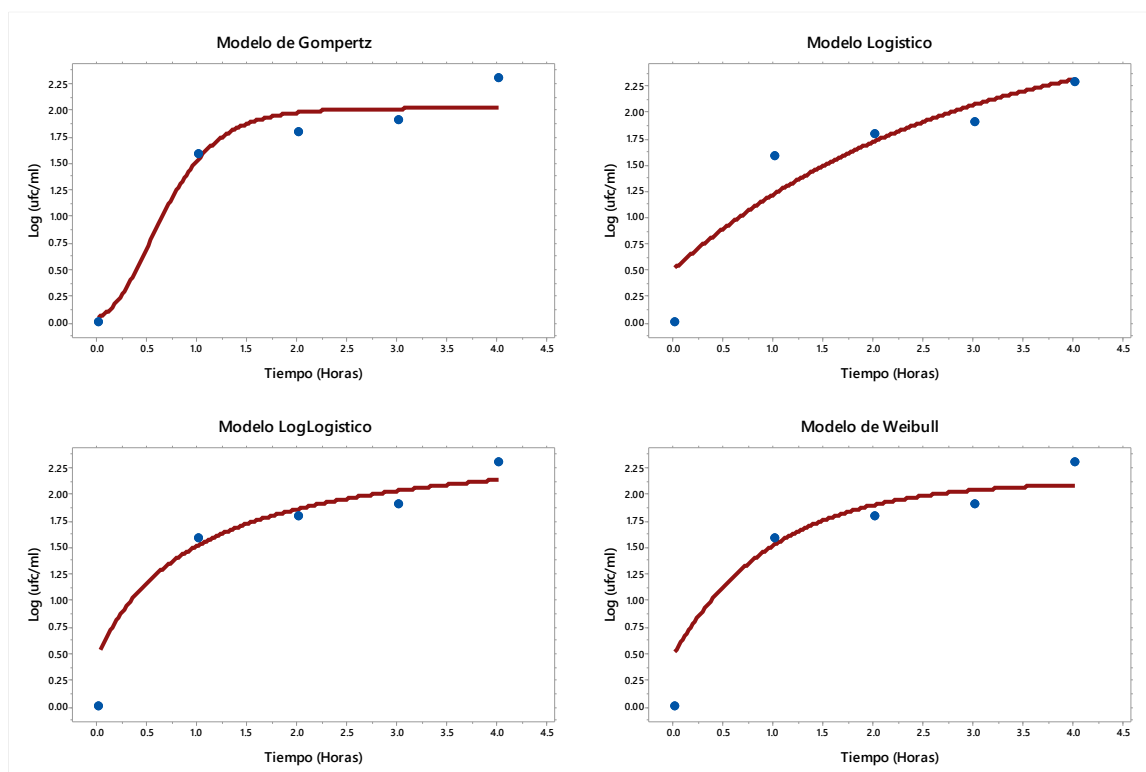
| <b>Modelo</b>        | <b>C</b> | <b>B</b> | <b>M</b> | <b>D</b> | <b>Iteraciones</b> | <b>S</b> |
|----------------------|----------|----------|----------|----------|--------------------|----------|
| <b>Cinético</b>      |          |          |          |          |                    |          |
| <b>Gompertz</b>      | 0.215    | 1.238    | 0.966    | -        | 9                  | 0.016    |
| <b>Logístico</b>     | 0.260    | -0.236   | 0.200    | 1.818    | 12                 | 0.020    |
| <b>Log Logístico</b> | 0.293    | -0.179   | 1.000    | 1.000    | 1                  | -        |
| <b>Weibull</b>       | 0.197    | -0.190   | 1.000    | 1.000    | 1                  | -        |

Estos parámetros cinéticos son muy importantes ya que mediante estos podemos optimizar procesos en la cinética de crecimiento o en la obtención de otros metabolitos (Castro et al., 2008; Valbuena et al., 2008); es por eso que cada uno de los modelos nos muestra de forma matemática el comportamiento celular como los estudios realizados en bacterias lácticas (Chowdhury, Chakraborty, & Chaudhuri, 2007; León et al., 2006); es por eso que los modelos sigmoidales son de múltiples aplicaciones para la industria alimentaria ideales para la fermentación (Belda et al., 2014; Rodríguez & Chambi, 2019).

#### 4.2.2. Curva de crecimiento microbiano de LL

En la figura 15 se muestra la cinética las curvas de crecimiento microbiano para *Lactobacillus lactis*, en ella se puede apreciar que el mejor ajuste de los datos los presenta la cinética por el

modelo de Gompertz, seguido del modelo logístico, en contraste los modelos logísticos modificado y Weibull no presentan un buen ajuste.



**Figura 15.** Curva de crecimiento microbiano para *Lactobacillus lactis*.

León et al. (2006), muestra un crecimiento bacteriano de *Lactobacillus brevis* LBM 13, que alcanzo su crecimiento máximo a las 11 horas de fermentación valores los cuales difieren a nuestro estudio que se alcanzó la tasa máxima de crecimiento a la cuarta hora.

La tabla 10 muestra los parámetros cinéticos de crecimiento en la que se puede apreciar que con respecto a la concentración máxima de crecimiento (C) el modelo Logístico el cual presento el mayor valor con 2.861 seguido del modelo Log Logístico con un valor de 2.556, sobre la velocidad máxima de crecimiento (B), el modelo que presento un buen ajuste fue el modelo de Gompertz y con respecto a la velocidad de arranque a la fase exponencial (M) el modelo que presento un buen resultado fue el modelo logístico seguido de Gompertz.

Tabla 10.  
Parámetros cinéticos de crecimiento de *Lactobacillus lactis*

| Modelo Cinético      | C     | B       | M      | D     | Iteraciones | S     |
|----------------------|-------|---------|--------|-------|-------------|-------|
| <b>Gompertz</b>      | 2.023 | 1.339   | 2.648  | -     | 14          | 0.253 |
| <b>Logístico</b>     | 2.861 | -49.916 | -8.127 | 2-649 | 200         | 0.652 |
| <b>Log Logístico</b> | 2.556 | 0.495   | 1      | 1     | 1           | -     |
| <b>Weibull</b>       | 2.125 | 0.508   | 1      | 1     | 1           | -     |

### 5.3. Evaluación sensorial

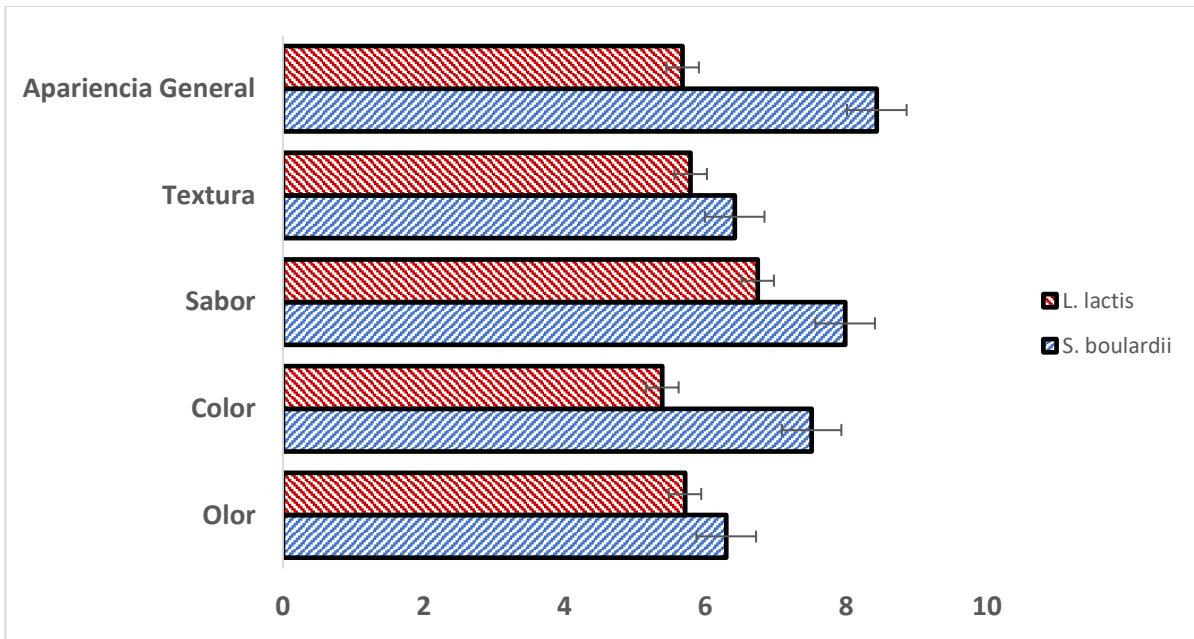
La tabla 11 muestra los resultados de análisis sensorial en ella se puede apreciar que los tratamientos realizados difieren entre sí, asimismo, en ella se puede observar que el tratamiento con *Saccharomyces boulardii* obtuvo el mayor valor en todos los atributos sensoriales.

Tabla 11.  
Análisis sensorial de los tratamientos

| Tratamiento         | Olor      | Color     | Sabor     | Textura   | Apariencia General |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------------|
| <i>S. boulardii</i> | 6.3 ± 1.3 | 7.5 ± 1.7 | 7.9 ± 1.3 | 6.4 ± 1.7 | 8.4 ± 1.4          |
| <i>L. lactis</i>    | 5.7 ± 1.4 | 5.3 ± 2.0 | 6.7 ± 1.6 | 5.7 ± 1.5 | 5.6 ± 1.6          |

Nota: <sup>a,b</sup> las letras compartidas muestran similitud estadística al 95%

Asimismo, la figura del análisis sensorial muestra la confirmación de lo hallado en el análisis estadístico en ella se puede observar existe una amplia diferencia en la aceptación general del producto la cual muestra que el tratamiento con *Saccharomyces boulardii* fue mejor que el tratamiento con *Lactobacillus lactis*.



**Figura 16.** Gráfico de barras del análisis sensorial

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

A partir del presente estudio, se concluye, que las curvas del crecimiento de volumen de la masa hay un mayor incremento de masas en tratamiento de *Saccharomyces boulardii*. y *Lactobacillus lactis*. Y su criterio estadístico de regresión de SB tiene un mejor ajuste a comparación del tratamiento Ll, con un valor de  $R^2$  de 0.94; con una significancia de 0.01 y 0.05. en pH hubo un descendió de 4.5 y 4.5 y su acidez presentaron pendiente positiva y así mostrando un incremento de acidez.

El análisis físico y proximales del pan, muestra que existe diferencia estadística en algunos de los parámetros estudiados como cenizas y grasas en contraste a los demás que no cuentan con diferencia estadística, por otro lado, la normalidad muestra que los datos a excepción de la fibra están normalmente distribuidos, asimismo, la prueba de leven nos muestra que los datos analizados muestran que existe una buena homogeneidad de varianza.

La curva de crecimiento microbiano para *Saccharomyces bulardii* el modelo matemático de Log Logístico presento el mayor valor con 0.293, el modelo Logístico con un valor de 0.260. Al respecto de la velocidad máxima de crecimiento (B), y la velocidad de arranque a la fase exponencial (M) el modelo que presento un buen resultado fue el modelo logístico seguido de modelo Gompertz. Y en curva de crecimiento microbiano *Lactobacillus lactis*, la concentración máxima de crecimiento (C) el modelo Logístico lo cual presento el mayor valor con 2.861 luego el modelo Log Logístico con un valor de 2.556. al respecto de la velocidad máxima de crecimiento (B), el modelo que presento un buen ajuste fue el modelo de Gompertz y la velocidad de arranque a la fase exponencial (M) el modelo que presento un buen resultado fue el modelo logístico seguido de Gompertz.

En aceptación general del producto mayor aceptabilidad tuvo fue el tratamiento con *Saccharomyces boulardii*, con una amplia diferencia que el tratamiento con *Lactobacillus lactis*.

## **5.2. Recomendaciones**

- Caracterización de las cepas de masa madre.
- Evaluar las propiedades reológicas de la masa madre
- Análisis de ácidos orgánicos como ácido acético

## **REFERENCIA**

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>
- Betancourt, S., Ayala, A., & Ramírez, C. (2014). Bacterias Ácido Lácticas Sobre Propiedades Effect of the Fermentation Process With Lactic Acid Bacteria on Rheological Properties of Qpm Dough. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 503–511.
- 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. P., & Young, L. S. (2007). *Technology of Breadmaking* (Google eBook).
- Cauvain, S., & Young, L. (2007). *Technology of Breadmaking* (Second; Springer, ed.). New York.
- Coll, F., Giannuzzi, L., Noia, M., & Zaritzky, N. (2001). El Modelado Matemático: Una Herramienta Útil para la Industria Alimenticia. *Ciencia Veterinaria* ., 22–28.
- 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>
- 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*. <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, C., 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.



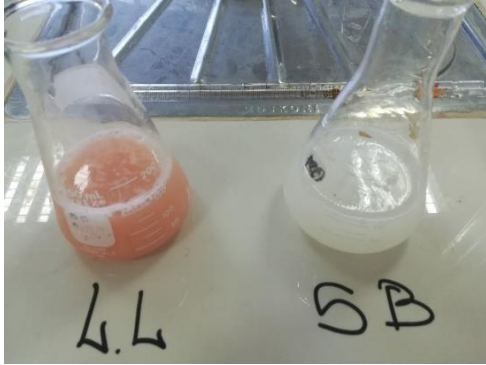
- Prieto, M., Mouwen, J., López, S., & Cerdeño, A. (2008). Concepto de calidad en la industria alimentaria. *Interciencia*, 33(4), 258–264. Retrieved from [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442008000400006&lng=pt&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442008000400006&lng=pt&nrm=iso&tlng=es)
- 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.
- 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, M., Ruiz, M., & Morales, M. (2015). Microorganismos probióticos y salud. *Ars Pharmaceutica*, 56(1), 45–59. <https://doi.org/10.4321/S2340-98942015000100007>
- 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.
- Zhang, L., Huang, S., Ananingsih, V., Zhou, W., & Chen, X. (2014). A study on *Bifidobacterium lactis* Bb12 viability in bread during baking. *Journal of Food Engineering*, 122(1), 33–37. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.08.029>

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



Activación de cepas



Preparación de prefermentos



Punto de activación



Masa madre

## Anexo 2. Análisis fisicoquímicos



Análisis de humedad



Análisis de Ceniza



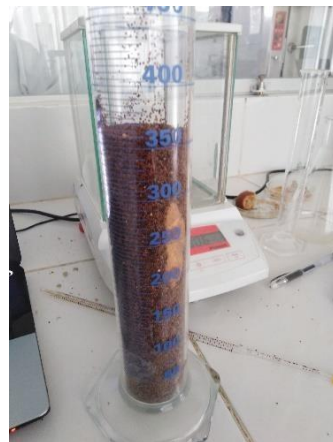
Análisis de proteínas



Análisis de grasa



Análisis de fibra



Análisis de volumen

**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>5b</sub> |   |   |   | Muestra: T <sub>CSb</sub> |   |   |   | Muestra: T <sub>TU</sub> |   |   |   | Muestra: T <sub>CU</sub> |   |   |   |
|---|----------------------------|--------------------------|---|---|---|---------------------------|---|---|---|--------------------------|---|---|---|--------------------------|---|---|---|
|   |                            | O                        | C | S | T | O                         | C | S | T | O                        | C | S | T | O                        | C | S | T |
| 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 4. Base de datos de análisis realizados a las masas

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

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

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

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

Tabla de datos del monitoreo de la acidez

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

Anexo 5. 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>  |

