

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

**Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la
Producción**

“Efecto de aditivos mejoradores sobre la calidad organoléptica y tiempo de vida útil en la elaboración del pan de almidón de yuca.”

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del Título de:

INGENIERO DE ALIMENTOS

Presentada por:

Xavier Alfredo Tinoco Vergara

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año: 2008

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme fuerzas día a día, a mis padres y hermanos por su apoyo incondicional, a Ana María por su valiosa amistad y su gran ayuda, a Jessica y Patricio por su gran aporte y a todos mis amigos.

DEDICATORIA

A MIS PADRES
MARIANA Y KEPTI

A MIS HERMANOS:
ANDREA Y BOLÍVAR.

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Ing. Francisco Andrade S.
DECANO DE LA FIMCP
PRESIDENTE

Ing. Ana María Costa V.
DIRECTOR DE TESIS

Ing. Jéssica Velásquez O.
VOCAL

Ing. Patricio Cáceres C.
VOCAL

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”

(Reglamento de Graduación de la ESPOL).

Xavier Tinoco Vergara

RESUMEN

El pan de almidón de yuca tanto a nivel industrial como artesanal tiene un defecto causado por la retrogradación del almidón que está directamente relacionado con el envejecimiento y endurecimiento del mismo, lo que provoca que el producto se torne muy rígido y cambie totalmente su textura luego de la cocción.

Debido a ello, el objetivo de este trabajo es desarrollar un pan de almidón de yuca que permita mantener la textura por más tiempo a temperatura ambiente (25°C – 32°C) conservando buenas características organolépticas sin la necesidad de una congelación tipo Individually Quick Frozen o I.Q.F. (que es el método utilizado actualmente por las industrias alimentarias para este producto) o un recalentamiento que es utilizado a nivel artesanal.

Para lograrlo primero se realizaron pruebas piloto para definir la formulación del pan, la cual permitiría obtener una mayor durabilidad que los panes de yuca elaborados artesanalmente. Para ello se utilizaron varias opciones de materia prima existente en el mercado y por medio de la experimentación se establecieron cuales son las que aportaban mejor textura.

Posteriormente, se experimentaron con diferentes aditivos (agentes mejoradores de textura, que son los antiendurecedores) y concentraciones utilizados en la industria de panificación para la conservación del pan.

Se realizaron evaluaciones sensoriales con paneles de degustación para determinar la aceptabilidad del pan luego de permanecer algunos días almacenados a temperatura ambiente y a las mismas condiciones de almacenamiento. Después, por medio de análisis estadísticos y paneles sensoriales se determinaron los panes con mayor aceptación en función de la textura.

Finalmente se determinó el tiempo de vida útil mediante pruebas de estabilidad microbiológica, cuyos resultados se corroboraron empleando un modelo matemático; con el fin de determinar si el empleo de aditivos como agentes mejoradores en la elaboración de pan de almidón de yuca es el camino para lograr el mejoramiento de la textura y la aceptación por parte de los consumidores de un pan de yuca típico, logrando una mayor estabilidad en condiciones de conservación a temperatura ambiente

RESUMEN

El pan de almidón de yuca tanto a nivel industrial como artesanal tiene un defecto causado por la retrogradación del almidón que está directamente relacionado con el envejecimiento y endurecimiento del mismo, lo que provoca que el producto se torne muy rígido y cambie totalmente su textura luego de la cocción.

Debido a ello, el objetivo de este trabajo es desarrollar un pan de almidón de yuca que permita mantener la textura por más tiempo a temperatura ambiente (25°C – 32°C) conservando buenas características organolépticas sin la necesidad de una congelación tipo Individually Quick Frozen o I.Q.F. (que es el método utilizado actualmente por las industrias alimentarias para este producto) o un recalentamiento que es utilizado a nivel artesanal.

Para lograrlo primero se realizaron pruebas piloto para definir la formulación del pan, la cual permitiría obtener una mayor durabilidad que los panes de yuca elaborados artesanalmente. Para ello se utilizaron varias opciones de materia prima existente en el mercado y por medio de la experimentación se establecieron cuales son las que aportaban mejor textura.

Posteriormente, se experimentaron con diferentes aditivos (agentes mejoradores de textura, que son los antiendurecedores) y concentraciones utilizados en la industria de panificación para la conservación del pan.

Se realizaron evaluaciones sensoriales con paneles de degustación para determinar la aceptabilidad del pan luego de permanecer algunos días almacenados a temperatura ambiente y a las mismas condiciones de almacenamiento. Después, por medio de análisis estadísticos y paneles sensoriales se determinaron los panes con mayor aceptación en función de la textura.

Finalmente se determinó el tiempo de vida útil mediante pruebas de estabilidad microbiológica, cuyos resultados se corroboraron empleando un modelo matemático; con el fin de determinar si el empleo de aditivos como agentes mejoradores en la elaboración de pan de almidón de yuca es el camino para lograr el mejoramiento de la textura y la aceptación por parte de los consumidores de un pan de yuca típico, logrando una mayor estabilidad en condiciones de conservación a temperatura ambiente

INDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN.....	II
ÍNDICE GENERAL.....	III
ABREVIATURAS.....	VI
SIMBOLOGÍA.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
ÍNDICE DE TABLAS.....	X
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO 1:	
1. GENERALIDADES.....	3
1.1. Características de la materia prima.....	3
1.1.1. La yuca.....	3
1.1.2. Almidón.....	4
1.1.3. Obtención de almidón de yuca.....	4
1.2. Retrogradación del almidón.....	7
1.3. Aditivos en la industria de la panificación.....	11
1.3.1. Aditivos.....	11
1.3.2. Aditivos antiendurecedores	12
1.3.3. Aditivos antioxidantes.....	17
1.4. Pan de almidón de yuca.....	18

1.4.1. Selección de la materia prima.....	19
1.4.2. Función de los principales ingredientes en el pan.....	20
1.4.3. Proceso básico de elaboración de pan de almidón de Yuca.....	22

CAPITULO 2:

2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
2.1. Formulación del pan de almidón de yuca.....	25
2.1.1. Caracterización organoléptica y bromatológica del queso.....	30
2.1.2. Caracterización organoléptica y bromatológica del almidón de yuca.....	31
2.1.3. Fórmula base del pan de almidón de yuca.....	32
2.2. Selección de aditivos.....	33
2.2.1. Caracterización de los antioxidantes.....	33
2.2.2. Caracterización de los antiendurecedores.....	34
2.3. Pruebas a nivel de laboratorio.....	38
2.3.1. Formulación del pan de almidón de yuca con diferentes aditivos.....	38
2.3.2. Cálculo del porcentaje de pérdida de peso durante la cocción.....	46
2.3.3. Cálculo del volumen de los panes de almidón de yuca.....	48

2.4. Características del material de empaque propuesto.....	49
---	----

CAPITULO 3:

3.RESULTADOS.....	
3.1. Pruebas sensoriales – escala hedónica.....	52
3.1.1. Tabulación de resultados.....	53
3.1.2. Análisis de varianza.....	56
3.1.3. Prueba de Tukey.....	60
3.2. Prueba de comparación de pares.....	62
3.3. Pruebas de estabilidad.....	64
3.3.1. Determinación de la humedad del producto final.....	64
3.3.2. Determinación de la estabilidad microbiológica y de Humedad.....	66
3.3.3. Determinación de la vida útil.....	76

CAPITULO 4:

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	82
--	----

APÉNDICES.

BIBLIOGRAFÍA.

ABREVIATURAS

C	Número de colonias
D	Inverso de la dilución
Ea	Energía de activación
EDTA	Etilendiaminotetracético
Etc.	Etcétera
F	Factor de siembra
Fig.	Figura
g	Gramo
H	Humedad
HR	Humedad Relativa
Log	Logaritmo
LST	Lauril Sulfate Broth
Min	Minutos
P1	Pan 1 (muestra)
PCA	Plate Count Agar
PDA	Potato Dextrose Agar
pH	Potencial de Hidrógeno
S	Sólidos
SSL	Estearil Lactilato de Sodio
<i>Tref</i>	Temperatura de referencia
UFC	Unidades formadoras de colonias

SIMBOLOGÍA

Cl	Cloro
CO ₂	Dióxido de Carbono
dA	Degradación del atributo A
Dfe	Grados de libertad error
Dfj	Grados de libertad jueces
Dfm	Grados de libertad muestra
Dft	Grados de libertad total
Dt	Degradación del tiempo
Ea	Energía de activación
F	Varianza
f1	Grados de libertad
FC	Factor de Corrección
Fj	Razón de varianza jueces
Fm	Razón de varianza muestra
Ms	Cuadrado promedio
Mse	Cuadrado promedio error
Msj	Cuadrado promedio jueces
Msm	Cuadrado promedio muestra
Na	Sodio
NaCl	Cloruro de Sodio
°C	Grados Celsius
Df	Grados de libertad
°T	Temperatura
x	Variable
Q ₁₀	Factor de Aceleración
Se	Error Estándar
Ss	Suma de cuadrados
Sse	Suma de cuadrados error
Ssj	Suma de cuadrados jueces
Ssm	Suma de cuadrados muestra

Sst
 θ_s

Suma de cuadrados total
Tiempo de vida útil

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1.1 Mecanismos de retrogradación del almidón.....	7
Figura 1.2 Función de las fracciones del almidón en el envejecimiento del pan sin emulsionantes	9
Figura 1.3 Pan de almidón de yuca.....	18
Figura 1.4 Diagrama de flujo de la elaboración tradicional del pan.....	24
Figura 2.1 Diagrama de flujo del pan de almidón de yuca.....	29
Figura 3.1 Variación de humedad.....	67
Figura 3.2 Crecimiento de mohos.....	76

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1	Componentes básicos del almidón.....5
Tabla 2	Composición química del almidón de yuca.....6
Tabla 3	Contenido de amilosa en el almidón de yuca.....6
Tabla 4	Viscosidad del almidón de yuca.....6
Tabla 5	Ingredientes del pan de almidón de yuca.....19
Tabla 6	Formulaciones del pan de almidón de yuca.....26
Tabla 7	Características del queso fresco criollo.....30
Tabla 8	Características del almidón de yuca.....31
Tabla 9	Fórmula base.....32
Tabla 10	Pruebas para determinar el antiendurecedor.....42
Tabla 11	Calificación de los antiendurecedores.....43
Tabla 12	Pruebas para determinar la combinación de antiendurecedores.....44
Tabla 13	Calificación de las combinaciones de antiendurecedores.....46
Tabla 14	Pérdida de peso de los panes de yuca.....47
Tabla 15	Volumen de los panes de yuca.....48
Tabla 16	Tabulación de las muestras.....54
Tabla 17	Tabulación de los resultados.....55
Tabla 18	Resultados de prueba de comparación de pares.....63
Tabla 19	Peso de las muestras.....65
Tabla 20	Tabla de humedad.....67
Tabla 21	Número de colonias de aerobios totales (por duplicado).....69
Tabla 22	Resultado del recuento de aerobios totales.....70
Tabla 23	Recuento de coliformes totales (por triplicado).....71
Tabla 24	Número de colonias de mohos y levaduras (por triplicado).....73
Tabla 25	Resultado del recuento de mohos y levaduras.....74
Tabla 26	Cuadro de resumen de variables.....75

INTRODUCCIÓN

La retrogradación es un proceso de transformación que ocurre cuando el almidón gelatinizado es almacenado a temperatura ambiente o en frío. Las moléculas de almidón gelatinizadas se aglomeran progresivamente mediante enlaces de hidrógeno, incrementándose la cristalinidad dentro del gel dando como resultado una estructura dura. El pan de almidón de yuca, por poseer en su estructura gran cantidad de almidón sufre el mismo proceso de transformación el cual está directamente relacionado con el endurecimiento del mismo, lo que provoca que luego del enfriamiento posterior a la cocción se torne muy rígido y cambie totalmente su textura.

Para la elaboración del pan de almidón de yuca se debe considerar el uso de los aditivos (emulgentes) para lograr un volumen mayor, una estructura más suave de la miga y una mayor duración.

La finalidad de esta investigación es lograr desarrollar la fórmula adecuada de pan de almidón de yuca que disminuya la velocidad de retrogradación del almidón, dándole así un mayor tiempo de vida útil y logrando que guarde las características organolépticas iniciales por más tiempo.

OBJETIVOS

1.- Definir la fórmula de pan de yuca que más se parezca al elaborado artesanalmente, prolongándole el tiempo de vida útil.

2.- Encontrar un aditivo alimentario y la dosis respectiva que ayuden a mantener las cualidades organolépticas como la suavidad y textura del pan de yuca almacenado a temperatura ambiente.

3.- Definir microbiológicamente cuál es el tiempo máximo recomendado de consumo.

CAPITULO 1

1. GENERALIDADES

1.1. Características de la materia prima

1.1.1. La yuca

En el Ecuador, se cultiva la yuca o mandioca cuyo nombre científico es *Manihot Esculenta Crantz*. Tiene un alto contenido de carbohidratos, es resistente a la sequía, plagas y enfermedades, se la cosecha en varias épocas del año y es utilizada en la industria y en la alimentación humana y animal.

Por su potencial de producción y usos finales la yuca se ha convertido en base de la alimentación para la población rural y en una alternativa de comercialización en centros urbanos ya que las raíces son ricas en almidón y sus hojas ricas en proteínas (16).

1.1.2. Almidón

El almidón es el carbohidrato más importante en la actividad humana por su función alimenticia y por sus múltiples aplicaciones en la industria y el comercio (2).

El almidón es un agente espesante. Se encuentra en los cereales, los tubérculos y en algunas frutas como polisacárido de reserva energética y su concentración varía con el estado de madurez (13).

Químicamente es una mezcla de dos polisacáridos muy similares, la amilosa y la amilopectina. Tanto la amilosa como la amilopectina influyen de manera determinante en las propiedades sensoriales y reológicas de los alimentos, principalmente mediante su capacidad de hidratación y gelatinización.

1.1.3. Obtención del almidón de yuca

El proceso de obtención del almidón de yuca es un procedimiento sencillo en el que una vez lavadas y peladas las

raíces de la yuca, se rallan para que liberen los gránulos de almidón. A continuación se separa de la pulpa el líquido que contiene los gránulos en suspensión, después de lo cual éstos se extraen del agua por sedimentación o con una centrifuga. A continuación, el almidón se seca al sol o mecánicamente para eliminar la humedad, antes de molerlo, colarlo y envasarlo.

CARACTERÍSTICAS DEL ALMIDÓN DE YUCA:

TABLA 1

COMPONENTES BÁSICOS DEL ALMIDÓN

Propiedades	Amilosa	Amilopectina
Estructura general	Lineal	Ramificada
Coloración con yodo	Azul	Púrpura
Estabilidad	Inestable	Estable
Solubilidad en agua	Variable	Soluble
<i>Conversión en maltosa %</i>		
Con alfa-amilasa	110	90
Con beta-amilasa	70	55

Fuente: www.mandioca.com (2007)

TABLA 2**COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ALMIDÓN DE YUCA**

Almidón	% Humedad (HR 20 °C)	% Lípidos	% Proteínas	% Fósforo	Sabor y Olor
Yuca	13	0.1	0.1	0.01	Neutro

Fuente: www.mandioca.com (2007)

TABLA 3**CONTENIDO DE AMILOSA EN EL ALMIDÓN DE YUCA**

Tipo de Almidón	% de Amilosa
Yuca	16 a 19

Fuente: www.mandioca.com (2007)

TABLA 4**VISCOSIDAD DEL ALMIDÓN DE YUCA**

Almidón	Temperatura de gel. °C	Rango pico viscosidad	Unidades Brabender	
95°C 20 min.	50°C 20 min.			
Yuca	54-66	800-1500	500-350	500-550

Fuente: www.mandioca.com (2007)

1.2. Retrogradación del almidón

Éste fenómeno se define como la insolubilización y la precipitación espontánea, principalmente de las moléculas de amilosa, debido a que sus cadenas lineales se orientan paralelamente y accionan entre sí por puentes de hidrógeno a través de sus múltiples hidroxilos; se puede efectuar por diversas rutas que dependen de la concentración y de la temperatura del sistema. Si se calienta una solución concentrada de amilosa y se enfría rápidamente hasta alcanzar la temperatura ambiente se forma un gel rígido y reversible, pero si las soluciones son diluidas, se vuelven opacas y precipitan cuando se dejan reposar y enfriar lentamente (4).

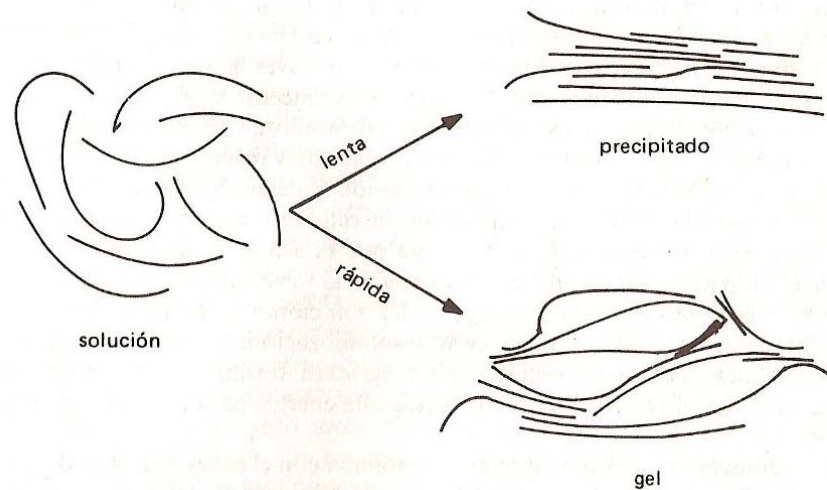


FIGURA 1.1. MECANISMOS DE RETROGRADACIÓN DEL ALMIDÓN

La retrogradación está directamente relacionada con el envejecimiento del pan. Originalmente se pensaba que la modificación de este alimento se debía a la facilidad de la amilosa para retrogradar y formar zonas cristalinas, pero posteriormente se encontró que también la amilopectina ejerce un efecto decisivo. Durante el cocimiento del pan parte de la amilosa se difunde fuera del gránulo y retrograda en el momento del enfriamiento, de tal manera que los gránulos (ahora ricos en amilopectina) se ven rodeados por moléculas de polímero lineal; se considera que el envejecimiento se debe básicamente a la asociación de las cadenas de amilopectina que permanecen en el gránulo hinchado después de haber perdido parte de la amilosa.

En el pan fresco, el polímero ramificado tiene todas sus ramas completamente extendidas, mientras que en el pan duro, están retrogradadas, unidas entre sí y sin el agua original.

De acuerdo con este mecanismo, los emulgentes inhiben este fenómeno porque interaccionan con la amilosa dentro del gránulo y evitan su difusión, lo que trae consigo que la amilopectina no se concentre y se exponga a la retrogradación.

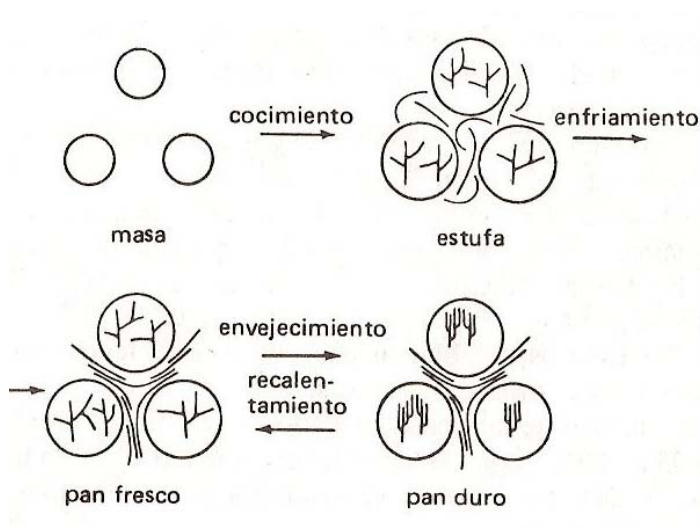


FIGURA 1.2. FUNCIÓN DE LAS FRACCIONES DEL ALMIDÓN EN EL ENVEJECIMIENTO DEL PAN SIN EMULSIONANTES.

El envejecimiento del pan puede hacerse reversible con calor húmedo, siempre y cuando el almidón no se encuentre en un estado muy avanzado de retrogradación. Las enzimas amilolíticas del sistema digestivo del humano no atacan a las zonas cristalinas que se producen y, en este sentido, se reduce el valor calórico de los alimentos que las contienen.

- **Evolución de los productos después de la cocción: envejecimiento/endurecimiento.**

Desde la salida del horno, los productos de cocción sufren una evolución más o menos lenta que ocasiona en ellos una pérdida de

las cualidades organolépticas que se traducen finalmente en un rechazo por el consumidor.

Esta velocidad de evolución depende:

- De la formulación del producto
- Del proceso de elaboración
- Del modo de conservación: embalaje, condiciones climáticas

Si se excluye los problemas de alteración microbiana, el endurecimiento es debido a dos tipos de fenómenos:

- 1.- Por la movilización del agua libre desde el interior del producto hasta la superficie.
- 2.- La retrogradación del almidón que ocasiona la movilización del agua ligada.

El almidón pasa al estado amorfo (obtenido durante la cocción) a un estado cristalino fijando las moléculas de agua extraídas, sobre todo sobre el gluten llamado fenómeno de la retrogradación.

Estos procesos permanecen en el momento actual bastante mal conocidos y se han propuesto numerosas hipótesis.

Se considera un agente antiendurecedor, una sustancia capaz de frenar o retrasar la evolución de un producto cocido o de volver a darle un estado fresco. Es por tanto difícil atribuir del envejecimiento y de otros fenómenos, puramente físicos, a la migración del agua a un estado diferente (11).

1.3. Aditivos en la industria de la panificación

1.3.1. Aditivo

Según las primeras reuniones de la Comisión del “Codex Alimentarius”, se entiende por aditivo alimentario toda sustancia que no se consume normalmente, aunque tenga carácter alimenticio y no sea usada normalmente como ingrediente característico de un alimento, tenga o no valor nutritivo y se añada intencionalmente a un alimento con un fin tecnológico y organoléptico, en cualquier fase de la fabricación, de la transformación, del tratamiento, del acondicionamiento, del envasado, del transporte o del almacenamiento del referido alimento y que pueda afectar o afecte las características del mismo.

La expresión no se aplica ni a los contaminantes ni a las sustancias añadidas a los alimentos con el objeto de mantener o mejorar sus propiedades nutritivas.

1.3.2. Aditivos antiendurecedores

Como aditivos mejoradores de textura se hallan los antiendurecedores que son utilizados en las industrias de cocción para que un producto, una vez cocido, permanezca el mayor tiempo posible en buen estado de frescura.

La pérdida de calidad de un pan, está en el espíritu de los consumidores, casi siempre relacionada con su endurecimiento y de este hecho, el término toma un sentido mucho más amplio que el fenómeno preciso que designa.

Los productos de cocción están caracterizados:

a) En principio por una formulación en la cuál entran, en proporciones variables, harina, agua, sal y levadura, en el caso más simple del pan Francés, o azúcar, leche, huevos, materias grasas, etc., para los productos de panificación fina (pan de Viena, pastelería);

b) Después de un proceso de fabricación que incluye:

- ✓ Un tratamiento mecánico (amasado, mezclado...)
- ✓ Una gasificación
 - biológica (levadura)
 - química (polvos gasificantes)
 - física (emulsión agua / aire)

Esto puede efectuarse en varias fases (fermentación, cocción...)

- ✓ Una cocción

Son afectados por el endurecimiento:

Los panes (pan corriente, panes especiales...)

La bollería (panes de leche....)

La pastelería (bizcochos) (11)

Entre los aditivos antiendurecedores tenemos: Emulgentes, Gomas y Enzimas.

- **EMULGENTES**

Los agentes tensoactivos (emulgentes) son moléculas que tienen la propiedad de reducir la tensión superficial entre dos fases inmiscibles, tienden a concentrarse entre las dos fases,

favoreciendo su interacción, la que se refleja en la formación de una mezcla estable (6).

Constituyen la categoría más importante:

Su modo de acción difiere según el tipo utilizado, pero actúan lo más frecuentemente sobre el almidón, del que bloquean los receptores: son agentes directos.

Su eficacia es igualmente muy variable. Se pueden citar:

- Mono diglicéridos destilados.
- Estearoil lactilato de sodio.
- Polisorbato
- Acido diacetil tartárico
- Lecitina, etc.

o **Usos de los emulgentes:**

Los emulgentes se usan en la elaboración de aderezos, chocolates, margarinas, postres congelados, sustitutos de crema para café, entre otros.

En la industria de la panificación se emplean para evitar el rápido endurecimiento de la costra del pan, facilita la

manipulación de la masa y aumentan el volumen del pan. Las sustancias tensoactivas en la elaboración de pan y bollería tienen como acción una mejora de los poros, aumento de volumen, y disminuyen la velocidad de la retrogradación del almidón (11).

- **GOMAS**

Entre las gomas usadas en la industria de la panificación tenemos el xantano que se agrega a los alimentos para controlar la reología del producto final. El polímero produce un gran efecto sobre propiedades como la textura, liberación de aroma y apariencia, que contribuyen a la aceptabilidad del producto para su consumo. Por su carácter pseudoplástico en solución el xantano tiene una sensación menos gomosa en la boca que las gomas con comportamiento newtoniano.

Su comportamiento como antioxidante es mayor que el de otros polisacáridos debido a su gran capacidad de unirse a metales y su comportamiento viscoso (9).

- **ENZIMAS**

La pérdida de frescura de la miga del pan, es decir el endurecimiento del mismo, tiene un efecto económico muy negativo para los panaderos y consumidores. Las enzimas, en este caso las amilasas maltogénicas se han utilizado para aumentar la vida comercial del pan. Se ha observado que una alfa-amilasa maltogénica purificada producida por una cepa de *Bacillus subtilis*, tiene un efecto antiendurecimiento excelente, al modificar el almidón de la harina de trigo y así prolongando la frescura de la miga durante el almacenamiento. (16)

-Alfa amilasa maltogénica: retrasa la retrogradación del almidón, conservando así la frescura de la miga.

Mantiene la elasticidad de la miga, conservando la palatabilidad durante el almacenamiento.

No influye sobre la consistencia de la miga ni el volumen del pan. No puede sobredosificarse (8).

1.3.3. Aditivos antioxidantes

La oxidación de las grasas es la forma de deterioro de los alimentos más importante después de las alteraciones producidas por microorganismos.

La reacción de oxidación es una reacción en cadena, es decir, que una vez iniciada, continúa acelerándose hasta la oxidación total de las sustancias sensibles. Con la oxidación, aparecen olores y sabores a rancio, se altera el color y la textura, y desciende el valor nutritivo al perderse algunas vitaminas y ácidos grasos poliinsaturados. Además, los productos formados en la oxidación pueden llegar a ser nocivos para la salud.

Los antioxidantes pueden actuar por medio de diferentes mecanismos:

- Deteniendo la reacción en cadena de oxidación de las grasas.
- Eliminando el oxígeno atrapado o disuelto en el producto, o el presente en el espacio que queda sin llenar en los envases, el denominado espacio de cabeza.
- Eliminando las trazas de ciertos metales, como el cobre o el hierro, que facilitan la oxidación.

Entre los que son utilizados para la industria de panificación tenemos el Etilendiamintetracético y el Ácido Ascórbico.

1.4. Pan de almidón de yuca

Los panes de almidón de yuca son conocidos también como panecillos de queso o bolitas de queso, son pequeñas bolitas de queso, un popular refrigerio en Bolivia, Brasil, Paragua, Argentina, Ecuador, y gran parte de América del Sur.



FIGURA 1.3. PAN DE ALMIDÓN DE YUCA

El panecillo es a menudo expandido en las calles por vendedores que los llevan almacenados en contenedores calientes. Son económicos y son muy populares para ser consumidos por personas de todas las edades. Son característicos no solo porque son hechos de harina o almidón de yuca o harina de trigo, sino porque el interior es gelatinoso y algo húmedo. Si está mal cocido, puede

parecer crudo o blando. Su tamaño es alrededor de 2 cm a 15 cm de diámetro, con alrededor de 5 cm de alto.

1.4.1 Selección de la materia prima

Para la elaboración del pan de almidón de yuca es necesario seleccionar los ingredientes adecuados para la elaboración del mismo. Para ello se debe de considerar que el pan debe poseer entre su materia prima, elementos que le aporten el sabor característico y le ayuden a conservarse fresco por más tiempo.

Entre los ingredientes básicos tenemos:

TABLA 5
INGREDIENTES DEL PAN DE ALMIDÓN DE YUCA

Almidón de yuca
Queso
Mantequilla
Huevos
Leche
Sal
Azúcar
Agua

Fuente: X.Tinoco (2007)

1.4.2 Función de los principales ingredientes en el pan:

✓ **Leche:**

Se utiliza leche fresca entera líquida.

Funciones de la leche:

- Da color a la corteza (lactosa se carameliza).
- La textura del pan con la leche es mas suave.
- Mejora el sabor del pan.
- Eleva el valor nutritivo del pan.
- Aumenta el tiempo de conservación ya que retiene la humedad

✓ **Huevos:**

Se utiliza huevos enteros ya que realizan una serie de funciones en los productos en que se los utiliza como ingredientes. En el caso del pan funcionan como material estructural e impartidores de brillo.

✓ **Grasa vegetal:**

Se utiliza grasa vegetal porque le imparte un buen sabor al pan.

Además le imparte:

- Suavidad.
- Punto de cremar, es la propiedad de incorporar aire en el proceso de batido fuerte, en unión con azúcar o harina.

Función de la grasa en panificación:

- Mejora la apariencia, produciendo un efecto lubricante
- Aumenta el valor alimenticio, las grasas de panificación suministran 9.000 calorías por kilo.
- Mejora la conservación, la grasa disminuye la pérdida de humedad y ayuda a mantener fresco el pan.

✓ **Sal:**

Es un compuesto químico formado por Sodio.

Características de sal a utilizar:

- Granulación fina, poseer una cantidad moderada de yodo para evitar trastornos orgánicos, garantizar una pureza por encima del 95% y sea blanca.

Funciones de sal en panificación

- Mejorar el sabor, fortalece el gluten, puesto le permite a la masa retener el agua y el gas.

- La sal controla o reduce la actividad de la levadura, ejerce una acción bactericida no permite fermentaciones indeseables dentro de la masa.
- Las proporciones recomendables de sal a utilizar son: desde 1.5 hasta 3.0%.

✓ **Azúcar:**

En panificación se utiliza la sacarosa o azúcar de caña.

Funciones del azúcar en la panificación:

- Ayuda a una rápida formación de la corteza del pan debido a la caramelización del azúcar permitiendo que la temperatura del horno no ingrese directamente dentro del pan para que pueda cocinarse y también para evitar la pérdida del agua.

El azúcar es absorbente, absorbe humedad y trata de guardarse con el agua. Le da suavidad al producto (7).

1.4.3. Proceso básico de elaboración del pan de almidón de yuca

Para la elaboración del pan de almidón de yuca se siguen los siguientes pasos:

1.- Recepción y selección de la materia prima.

Aquí se debe considerar que dependiendo de la materia prima se va a obtener un producto de buena o mala calidad.

2.- En el mezclado y amasado.

A la mezcla se le adiciona una cantidad de agua calculada para la panificación y se procede al amasado.

La finalidad es la homogenización, evitando las bolsas de gas.

3.- Corte y moldeado de la masa.

4.- Cocción.

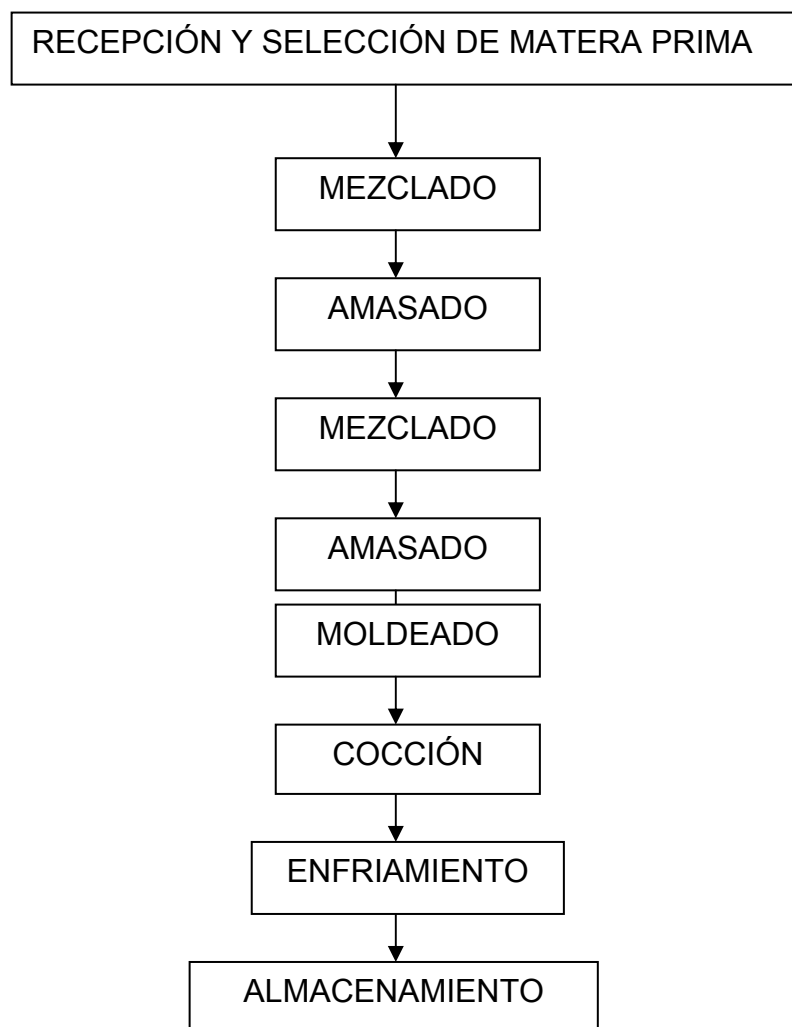
Se debe trabajar a las temperaturas más adecuadas para el horneado.

5.- Enfriamiento y almacenamiento.

Son un punto importante para la correcta conservación del pan.

Siempre ha preocupado la conservación del pan, el tiempo de cocción corto, masa poco esponjosas, un amasado intensivo a alta temperatura, en fin tiempos largos de horneado favorecen la conservación y la congelación acelera el envejecimiento.

❖ Diagrama de flujo de la elaboración tradicional del pan de almidón de yuca



Fuente: X.Tinoco (2007)

FIGURA 1.4. DIAGRAMA DE FLUJO DE LA ELABORACIÓN TRADICIONAL DEL PAN

CAPITULO 2

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la elaboración del pan de almidón de yuca se utilizó una metodología artesanal típica de los panaderos, considerando que la elaboración de la masa es un punto clave en la obtención de un pan suave y con excelentes características organolépticas.

2.1. Formulación del pan de almidón de yuca

Para la obtención de un pan que conserve su textura por más tiempo se realizaron distintas formulaciones obtenidas de recetas tradicionales de pan de yuca, con las cuales se buscaba una formulación adecuada. Para ello se realizaron nueve formulaciones distintas, las que se evaluaron en una matriz de decisión (Ver apéndice A), se analizaron y se determinó las cinco que aportaban mejores características considerando en la valoración parámetros organolépticos como textura, durabilidad, sabor, color y aroma.

Luego de realizada la matriz de decisión se escogieron las cinco fórmulas con mayor puntuación. Las cuales se detallan a continuación y en las observaciones (Ver apéndice B)

TABLA 6

FORMULACIONES DEL PAN DE DE ALMIDÓN DE YUCA

P INGREDIENTE R	PRUEBA	PRUEBA	PRUEBA	PRUEBA	PRUEBA
	1	2	3	4	5
	%	%	%	%	%
Almidón de yuca	38	40	36	38	47
Queso fresco	-	35	-	-	-
Queso criollo	38	-	41	38	19
Harina	13	-	12.5	-	-
Mantequilla	-	-	-	2	9
Grasa Vegetal	-	-	-	-	-
Huevos	7	0.5	6	3	1
Sal	0,08	1	0,2	0,8	2.3
Azúcar	0,04	-	0,06	-	1.4
Agua	-	10	-	-	-
Leche	5,4	13	4	19	21
°T del horno :	190°C	190°C	200°C	200°C	200°C
tiempo:	20 min	20 min	15 min	15 min	25 min
Peso de los panes:	20 g	20 g	20 g	20 g	15 - 20 g

Fuente: X.Tinoco (2008)

Luego de realizar distintas formulaciones y considerar las observaciones se determinó que para obtener la fórmula base más adecuada para la elaboración del pan de yuca que permita conservarse esponjoso por más tiempo, se debe tomar en cuenta lo siguiente:

✓ Queso

Como el queso es un ingrediente fundamental en la elaboración del pan, fue necesario que el queso (descrito en la tabla 7) sea molido en un molino “corona”, ya que esto va a permitir que la textura del pan sea muy uniforme y no sea poroso (en el caso de que sea rayado o desmenuzado).

✓ Mezcla

Fue necesario mezclar el queso molido con los huevos y con la grasa vegetal hasta lograr una masa homogénea. Se debe considerar que el amasado debe hacerse correctamente ya que es aquí donde se van a unir todas las materias primas permitiendo así que el pan tenga una porción uniforme de cada ingrediente.

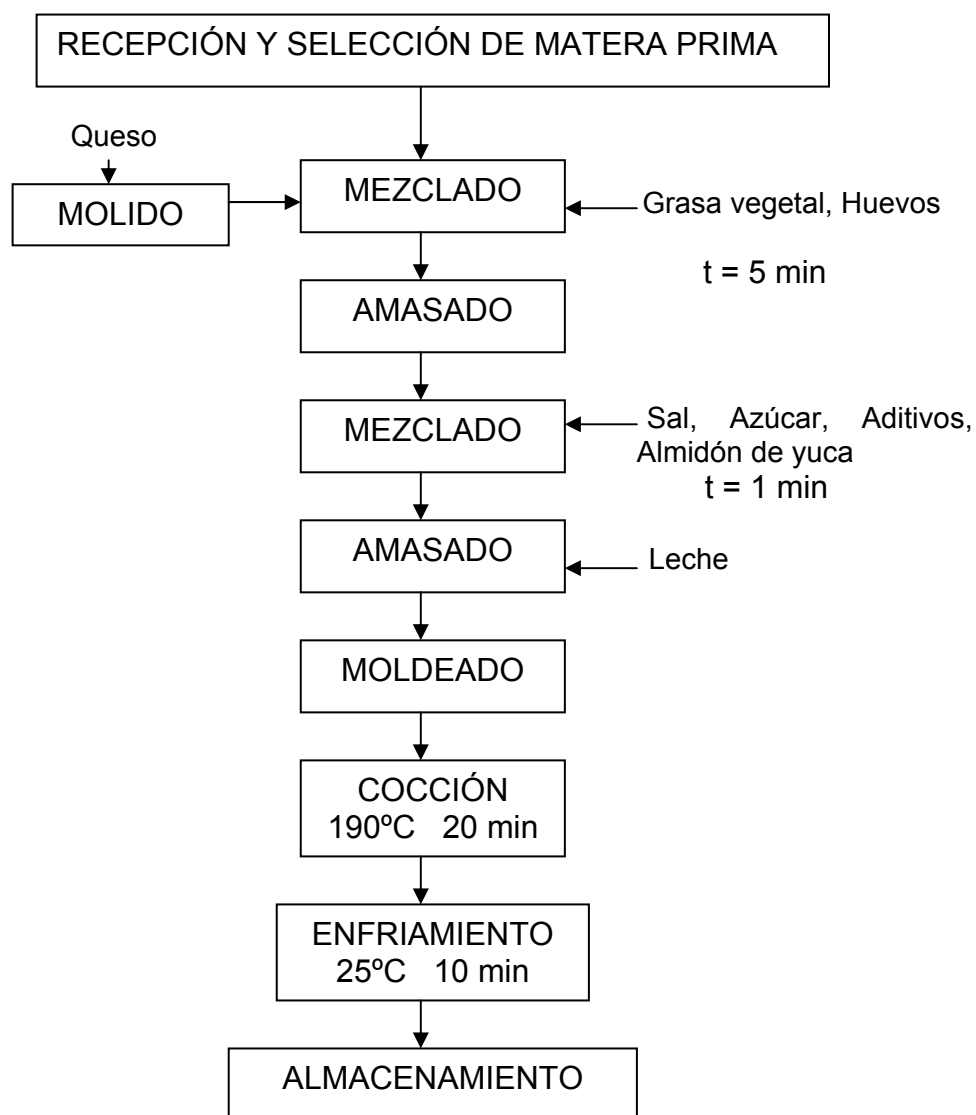
Así mismo se va añadiendo el almidón de yuca, y todos los ingredientes secos, como son los aditivos, la sal y el azúcar; se los debe esparcir por toda la masa homogénea obtenida anteriormente.

Luego a esto se debe añadir poco a poco la leche conforme sea absorbida por la masa. Es importante señalar que en la consistencia de la masa el exceso o restricción de agua producen cambios desfavorables en el producto final.

✓ Moldeo

Posterior a esto se debe realizar el moldeo o boleado de los panes para darles así una forma uniforme típica de los panes de yuca. Inmediatamente se los lleva a cocción en un horno por 20 min. a 190°C. Se los deja enfriar a temperatura ambiente por 10 min., y se almacenan.

❖ Diagrama de flujo del proceso



Fuente: X.Tinoco (2007)

FIGURA 2.1. DIAGRAMA DE FLUJO DEL PAN DE ALMIDÓN DE YUCA

2.1.1. Caracterización organoléptica y bromatológica del queso

El queso que se utiliza para la elaboración del pan de almidón de yuca debe ser un queso que contenga poca cantidad de agua en su composición, ya que un efecto clave en el proceso de retrogradación es la migración del agua del interior hacia el exterior del pan.

Para esto se utilizó un queso con las siguientes características:

TABLA 7
CARACTERÍSTICAS DEL QUESO FRESCO CRIOLLO

Características organolépticas	
ASPECTO	Presenta ojos pequeños desigualmente repartidos
COLOR	Blanco
OLOR	Característicos
SABOR	Característicos
Características bromatológicas	
GRASA	10 %
ACIDEZ	0.1332 %
HUMEDAD	36.53%
SÓLIDOS TOTALES	63.47%

Fuente: X.Tinoco (2007)

2.1.2. Caracterización organoléptica y bromatológica del almidón de yuca.

Para que la textura del pan sea uniforme y a la vez su apariencia externa sea lisa es necesario utilizar un almidón blanco-fino para poder lograr así que la masa se homogenice correctamente con todos los ingredientes.

Se utilizó un almidón de yuca con las siguientes características:

TABLA 8
CARACTERÍSTICAS DEL ALMIDÓN DE YUCA

pH=5.40 ± 1	
Características organolépticas	
ASPECTO	Polvo blanco fino
COLOR	Blanco
OLOR	Característico
Características bromatológicas	
CENIZAS	10.21 ± 0.01
HUMEDAD	0.11 ± 0.01

Fuente: X.Tinoco (2007)

2.1.3. Fórmula base del pan de almidón de yuca

Luego de repetidas pruebas para encontrar una fórmula que permita obtener un pan fresco por más tiempo y que a su vez sea utilizada para la posterior combinación con aditivos se obtuvo la siguiente:

TABLA 9
FORMULA BASE

INGREDIENTE	%
Almidón de yuca	35
Queso criollo	35
Grasa Vegetal	10.5
Huevos	10.5
Sal	1
Azúcar	0.3
Leche	7.9
°T del horno:	190°C
tiempo:	20 min
Peso de bolitas de pan : 20g	

Fuente: X.Tinoco (2008)

2.2. Selección de aditivos

Para la selección de los aditivos se consideraron los antioxidantes y antiendurecedores usados tradicionalmente en la industria de panificación.

2.2.1. Caracterización de los antioxidantes

Para la selección de los antioxidantes se buscó los que son utilizados frecuentemente en la industria de la panificación y que son apropiados para evitar la oxidación de los alimentos.

- **Etilendiamintetracético (EDTA)**

Producto:

Etilendiamintetracético (EDTA)

Aplicación:

Como agente quelante y como antioxidante en la industria de los alimentos

Beneficios:

Sirve como antioxidante en el uso de materiales como rodillos de metal, mezcladoras y las propias latas en las que se envasan los comestibles, son fuente de contaminación para los alimentos, por metales como cobre, hierro y níquel (10).

Dosis recomendada:

El uso promedio de concentraciones de EDTA va de 100 a 300 partes por millón.

- **Acido Ascórbico**

Producto:

Acido Ascórbico

Aplicación:

Pan de miga, pan de molde.

Beneficios:

Retardo en el enmohecimiento del pan

Dosis recomendada:

Dependiendo de la aplicación 20 – 24 g / Kg harina.

2.2.2. Caracterización de los antiendurecedores

Para la selección de los antiendurecedores se tomaron como referencia los usados para disminuir la velocidad del endurecimiento, mejorar estructura y manejo de masa.

Entre los propuestos estaban: estearil lactilato de sodio, enzima amilasa maltogénica, monoglicérido destilado, goma xanthan.

Los cuales se detallan a continuación:

- **Estearil Lactilato de Sodio (SSL)**

Producto:

Emulsificante

Composición:

Estearil Lactilato de Sodio (SSL)

Aplicación:

Es utilizado como emulsificante y acondicionador en la elaboración de diversos productos alimenticios.

Beneficios:

Mejora el volumen, textura y suavidad, otorga tolerancia y variación de ingredientes y proceso.

Mejora la maquinabilidad, corte, volumen, textura, y suavidad

Dosis recomendada:

Tortas y Mezclas de Tortas	0.1 a 0.2% (máx.) basado en el peso del producto final.
Productos Dulces con Levadura	0.5% máx. Basado en el peso de la harina.

- **Enzima Amilasa Maltogénica**

Producto:

Enzima Amilasa Maltogénica

Composición:

Amilasa Maltogénica purificada obtenida del *Bacillus subtilis*, y modificada genéticamente.

Aplicación:

Se usa por su efecto antiendurecedor.

Beneficios:

Retrasa la retrogradación del almidón, conservando así la frescura de la miga.

Mantiene la elasticidad de la miga, conservando la palatabilidad durante el almacenamiento.

No influye sobre la consistencia de la miga ni el volumen del pan. No puede sobre dosificarse.

Dosis recomendada:

La dosificación óptima es 1-10 g de enzima amilasa maltogénica por 100 Kg de harina, es decir 10-100 ppm.

- **Alfa Monoglicérido Destilado al 90%**

Producto:

Alfa Monoglicérido Destilado al 90%

Composición:

Alfa Monoglicérido Destilado al 90%

Aplicación:

De manera general en panificación y repostería

Beneficios:

Mejora la suavidad

Dosis recomendada:

0.1% - 0.35% del peso de la harina

- **Goma Xanthan**

Producto:

Goma Xanthan

Composición:

Exopolisacárido producido por *Xanthomonas campestris*, un patógeno de las coles

Aplicación:

La goma xanthan inhibe la retrogradación del almidón y la sinéresis de otros geles, estabiliza espumas, retrasa el crecimiento de cristales de hielo. Se comporta de forma sinérgica con la goma guar y con la goma de algarroba, formando geles blandos, elásticos y termo reversibles (3).

Beneficios:

Mejora la suavidad

Dosis recomendada:

0.1% - 0.5% del peso de la harina (puede ser mayor de acuerdo a los requerimientos)

2.3.Pruebas a nivel de laboratorio

Las pruebas realizadas en el laboratorio se las hicieron basadas en la metodología descrita anteriormente, considerando que el estudio realizado pueda ser llevado a escala industrial.

2.3.1. Formulación del pan de almidón de yuca con diferentes aditivos.**o Antioxidantes:**

Para el uso de los antioxidantes se aplicaron cantidades menores a las permitidas ya que se consideró que los aditivos ayudarían un poco a retardar la oxidación de las grasas.

Para el caso del Ácido Ascórbico se utilizó el 0.09% (de la fórmula base).

Para el caso del EDTA se hicieron algunas pruebas para establecer el porcentaje que se debía utilizar, sin embargo se consideró usar alrededor del 0.24% (de la fórmula base).

- Al realizar la aplicación de los antioxidantes se pudo notar que el ácido ascórbico hizo que el pan se torne un poco oscuro lo que provocaría el rechazo inmediato por parte de los consumidores. En cambio, con el EDTA el pan no presentaba olores ni sabores rancios, lo que hace ver que es el antioxidante adecuado.

○ **Antiendurecedores:**

Para determinar los antiendurecedores o la combinación de ellos que ayuden a mantener las cualidades organolépticas del pan de yuca se hicieron algunas pruebas con los antiendurecedores y los antioxidantes seleccionados. Se comparó la fórmula base con las distintas fórmulas que tenían aditivos antiendurecedores para determinar cuál de ellas

permitía una mayor prolongación de la vida útil en los panes. Para esto se tuvo que determinar la cantidad del antiendurecedor a agregar siguiendo las especificaciones del proveedor:

- **MONOGLICERIDO DESTILADO**

FUNCIÓN: Mejorador de suavidad

Patrón + 0.5% en la base total de la fórmula patrón (se hicieron variaciones del porcentaje)

- **ESTEORIL LACTILATO DE SODIO (SSL)**

FUNCIÓN: Mejorador de volumen, textura y suavidad

Patrón + 0.5% en la base total de la fórmula patrón (se hicieron variaciones del porcentaje)

- **ENZIMA AMILASA MALTOGENICA**

FUNCIÓN: No produce gomosidad, disminuye velocidad de retrogradación del almidón, alarga el tiempo de vida útil

Patrón + 150ppm en la base total de la fórmula patrón (se hicieron variaciones del porcentaje).

- **GOMA XANTHAN:**

FUNCIÓN: Inhibidor de la retrogradación del almidón.

Para el cálculo de la goma xanthan se propuso el 0.25 % de la fórmula base (*se hicieron variaciones del porcentaje*).

✓ **Pruebas:**

Se hicieron durante 3 días pruebas, las cuales consistían en aplicarle a la fórmula base y EDTA los porcentajes de los cuatro antiendurecedores por separado para luego hacer comparaciones entre ellos y determinar cuál era el que mejor funcionaba.

TABLA 10
PRUEBAS PARA DETERMINAR EL ANTIENDURECEDOR

	DÍA 1				DÍA 2				DÍA 3			
	<i>Pruebas</i>				<i>Pruebas</i>				<i>Pruebas</i>			
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>
Fórmula base + EDTA	<i>fórmula base + EDTA</i>				<i>fórmula base + EDTA</i>				<i>fórmula base + EDTA</i>			
	%	%	ppm	%	%	%	ppm	%	%	%	ppm	%
Monoglicérido destilado	0.5	-	-	-	0.6	-	-	-	0.7	-	-	-
Esteoril Lactilato de Na	-	0.5	-	-	-	0.6	-	-	-	0.7	-	-
Enzima amilasa maltogénica	-	-	150	-	-	-	151	-	-	-	152	-
Goma Xanthan	-	-	-	0.25	-	-	-	0.26	-	-	-	0.27

Fuente: X.Tinoco (2008)

En el día 1 se usaron valores cercanos a los estándares recomendados por los fabricantes de los aditivos. En las pruebas de los días 2 y 3 se aumentaron las dosis para encontrar la concentración que permita un mejor resultado, considerando que no se puede exceder en la dosis del antiendurecedor.

Luego de realizar las combinaciones necesarias para establecer el o los antiendurecedor a utilizar se les dio una calificación del 1 al 4 siendo 4 la mejor para determinar cual era la que mejor reaccionaba.la opinión. Estos resultados están basados en pruebas sensoriales en base a de 5 personas.

TABLA 11
CALIFICACIÓN DE LOS ANTIENDURECEDORES

	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
Monoglicérido destilado	3	3	3
Estearil lactilato de Na	2	2	2
Enzima amilasa maltogénica	1	1	2
Goma Xanthan	4	4	4

Escala de evaluación: Siendo 4 la mejor.

Fuente: X.Tinoco (2008)

- Se determinó que la Goma Xanthan por tener mayor puntaje era la que hacía que el pan de yuca luego de permanecer por un tiempo al ambiente presente mejores características organolépticas que los otros aditivos, por lo que se creyó conveniente hacer combinaciones entre ellos para determinar si era posible obtener mejores resultados.

TABLA 12
PRUEBAS PARA DETERMINAR LA COMBINACIÓN DE ANTIENDURECEDORES

COMBINACIONES																
	DÍA 1				DÍA 2				DÍA 3				DÍA 4			
	<i>Pruebas</i>				<i>Pruebas</i>				<i>Pruebas</i>				<i>Pruebas</i>			
	<i>a</i>	<i>B</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>A</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>
Fórmula base + EDTA	<i>fórmula base + EDTA</i>				<i>fórmula base + EDTA</i>				<i>fórmula base + EDTA</i>				<i>fórmula base + EDTA</i>			
	%	%	% <i>ppm</i>	%	%	%	% <i>ppm</i>	%	%	%	% <i>ppm</i>	%	%	% <i>Ppm</i>	%	
GOMA XANTHAN + Monoglicérido destilado	0.25 0.7	-	-	-	0.12 0.6	-	-	-	0.12 0.8	-	-	-	0.15 0.8	-	-	-
GOMA XANTHAN + Esteaoril Lactilato de Na	-	0.25 0.7	-	-	-	0.12 0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GOMA XANTHAN + Enzima amilasa maltogénica	-	-	0.25 152	-	-	-	0.12 150	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GOMA XANTHAN	-	-	-	0.25	-	-	-	0.25	-	-	-	0.25	-	-	-	0.25

Fuente: X.Tinoco (2008)

En todas las pruebas se utilizó la cantidad óptima determinada de goma (0.25% de la fórmula base) para que sea la muestra de referencia, y se la comparó con la combinación de la goma con los otros antiendurecedores.

En el día 1 se utilizó la misma cantidad de goma en todas las combinaciones por lo que los resultados fueron similares, lo que demuestra que la goma xanthan es la que mejores resultados presenta.

En las pruebas del día 2 se redujo la cantidad de la goma en todas las combinaciones para determinar si con el uso de otro antiendurecedor pueda presentar mejores resultados.

En las combinaciones goma-estearil y goma-enzima no se dieron buenos resultados, por lo que se las descartó.

En el día 3 se hicieron nuevas combinaciones goma-monoglicérido aumentando la dosis del monoglicérido y la de la goma, para determinar si esta combinación daba mejores resultados.

En las pruebas del día 4 se aumentó la dosis de la goma y la del monoglicérido, para determinar si esta combinación daría mejores resultados que solo el uso de la goma xanthan.

Para analizar los resultados se realizó una prueba sensorial con 5 personas, calificando de 1 á 4 (4 corresponde a la mejor) las combinaciones con antiendurecedores.

TABLA 13
CALIFICACIÓN DE LAS COMBINACIONES DE
ANTIENDURECEDORES

COMBINACIÓN	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Prueba 4
Goma Xanthan-Monoglicérido	4	3	3	3
Goma X.-Estearil	4	2	-	-
Goma X.-Enzima	4	1	-	-
Goma Xanthan	4	4	4	4

Escala de evaluación: Siendo 4 la mejor.

Fuente: X.Tinoco (2008)

- Se analizó los resultados y se pudo establecer nuevamente que el uso de la Goma Xanthan es más factible y da mejores resultados.
- Luego de permanecer los panes por cinco días al ambiente y en similares condiciones de almacenamiento, se observaron los cambios que tenían los panes con los distintos aditivos y se determinó que las muestras que tenían goma Xanthan y EDTA eran las únicas que habían mantenido significativamente su textura sin presentar olor ni sabor a rancio por más tiempo.

2.3.2. Cálculo del porcentaje de pérdida de peso durante la cocción.

Para establecer la pérdida promedio de peso después de la cocción y poder estandarizarla, se tomaron 10 panes y se obtuvo el valor en porcentaje:

TABLA 14
PÉRDIDA DE PESO DE LOS PANES DE YUCA

MUESTRA	Antes de cocción	Después de cocción	Pérdida de PESO	
			gramos	%
P1	20,1	18,3	1,8	9
P2	20,1	18,6	1,5	7
P3	20,1	18,9	1,2	6
P4	20	18,8	1,2	6
P5	20,1	18,5	1,6	8
P6	20,1	18,2	1,9	9
P7	20,1	18,9	1,2	6
P8	20	18,8	1,2	6
P9	20,1	18,5	1,6	8
P10	20,1	18,2	1,9	9

Fuente: X.Tinoco (2008)

Luego de encontrar el porcentaje de pérdida de peso de los panes durante el proceso de cocción se determinó que el promedio de porcentaje de pérdida es del 7.4%, lo que indica que la pérdida de agua durante la cocción es mínima.

2.3.3. Cálculo del volumen de los panes de yuca

Para determinar el incremento del volumen del pan de yuca durante la cocción se tomaron 10 muestras al azar. Se midió el volumen antes y después del horneado para calcular el porcentaje en que incrementa un pan de yuca (masa cruda) luego de la cocción.

TABLA 15
VOLUMEN DE LOS PANES DE YUCA

MUESTRA	Diámetro antes de la cocción (cm)	Diámetro después de la cocción (cm)	Aumento del diámetro (cm)	∇ inicial	∇ final	%
P1	2,6	3,6	1	9,2	24,4	265,5
P2	2,6	3,6	1	9,2	24,4	265,5
P3	2,8	3,8	1	11,5	28,7	250
P4	2,7	3,7	1	10,3	26,5	257,3
P5	2,7	3,8	1,1	10,3	28,7	278,8
P6	2,8	3,6	0,8	11,5	24,4	212,5
P7	2,6	3,6	1	9,2	24,4	265,5
P8	2,7	3,7	1	10,3	26,5	257,3
P9	2,7	3,8	1,1	10,3	28,7	278,8
P10	2,7	3,7	1	10,3	26,5	257,3

Fuente: X.Tinoco (2008)

El promedio de incremento del volumen del pan de yuca después de la cocción es del 258.85%. Lo que quiere decir que el almidón presente en el pan tiene un poder de expansión sin la necesidad de adicionarle levadura usada tradicionalmente en la industria de panificación.

2.4. Características del material de empaque propuesto

Para prolongar el tiempo en que se produzca la retrogradación del almidón en el pan de yuca no sólo es necesario utilizar aditivos sino también emplear un empaque que disminuya la velocidad de evolución del producto después de su cocción, ya que desde la salida del horno, los productos sufren una evolución que hace que pierdan sus características organolépticas.

Esta velocidad de evolución depende:

- De la formulación del producto
- De la receta de fabricación
- Del modo de conservación: embalaje, condiciones climáticas⁽⁴⁾

Lo que hace necesario utilizar un empaque que impida absorber la humedad del medio ambiente.

- ✓ Para las pruebas se recurrió a empaques de polipropileno similares a las utilizadas en la industria de panificación; sin embargo por medio de los análisis de humedad (capítulo 3), se pudo apreciar que los panes en estas fundas absorbieron cierta cantidad de humedad.

- *Funda de polipropileno:*

El Polipropileno es un termoplástico que se obtiene por polimerización del propileno. Los copolímeros se forman agregando Etileno durante el proceso. El polipropileno es el termoplástico de más baja densidad. Es un plástico de elevada rigidez, alta cristalinidad, elevado punto de fusión y excelente resistencia química.

Estas fundas son utilizadas en la industria de alimentos para productos de panificación, golosinas, galletas, debido a su alto poder de impermeabilidad.

Ventajas y Beneficios:

- Inerte (al contenido)
- Resistente a la temperatura (hasta 135° C)
- Barrera a los aromas
- Impermeable
- Irrompible
- Liviano
- Transparente en películas
- No tóxico
- Alta resistencia química
- Brillo

✓ PROPUESTA:

De acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas y en vista que el polipropileno no llego a constituir una adecuada barrera contra la humedad que permitiese llegar a alargar la vida útil del pan de yuca se propone la utilización de un empaque con atmósfera controlada para que impida que el pan absorba humedad del medio ambiente y pueda permanecer por más tiempo en percha en condiciones adecuadas.

CAPITULO 3

3. RESULTADOS

3.1. Pruebas sensoriales – escala hedónica

Con el fin de determinar el grado de aceptación por parte de consumidores potenciales se realizaron pruebas de tipo sensorial.

Existen 3 clases de pruebas: Pruebas de preferencia/aceptación, pruebas discriminatorias y pruebas descriptivas. Las de preferencia son efectivas para la medida de una preferencia relativa, los gustos personales de los panelistas dirigen su respuesta.

Las descriptivas son usadas para determinar la naturaleza y la intensidad de las diferencias.

Las discriminatorias se usan para determinar si existe diferencia entre las muestras.

- ✓ Se escogió la prueba de preferencia/aceptación porque se utiliza para evaluar la aceptación o rechazo de un producto determinado y aunque su realización pueda parecer rutinaria, el planteo es muy complejo y debe hacerse con rigor para obtener datos significativos.

3.1.1.Tabulación de resultados

Para la prueba de análisis sensorial se escogieron 10 panelistas semientrenados al azar para la degustación del pan de yuca para que acepten o rechacen los panes de acuerdo con las sensaciones experimentadas al observarlos e ingerirlos. Se les entregó para que llenen un cuestionario al que tenían que calificar en la siguiente escala de acuerdo a su preferencia:

Le gusta extremadamente

Le gusta mucho

Le gusta moderadamente

Le gusta ligeramente

Ni le gusta ni le disgusta

Le disgusta ligeramente

Le disgusta moderadamente

Le disgusta mucho

Le disgusta extremadamente (12)

Los resultados de los cuestionarios fueron transformados

a valores numéricos:

Le gusta extremadamente	9
Le gusta mucho	8
Le gusta moderadamente	7
Le gusta ligeramente	6
Ni le gusta ni le disgusta	5
Le disgusta ligeramente	4
Le disgusta moderadamente	3
Le disgusta mucho	2
Le disgusta extremadamente	1

CUADRO DE RESULTADOS:

TABLA 16

TABULACIÓN DE LAS MUESTRAS

Muestras	Días
A	4
B	2
C	3
D	1

Fuente: X.Tinoco (2008)

TABLA 17

TABULACIÓN DE LOS RESULTADOS

Jueces	A	B	C	D	total
1	3	5	6	7	21
2	7	6	4	8	25
3	4	7	6	7	24
4	3	6	4	7	20
5	4	6	5	7	22
6	2	5	2	6	15
7	5	8	6	7	26
8	5	7	4	5	21
9	5	6	4	6	21
10	4	7	2	8	21
total	42	63	43	68	216

Fuente: X.Tinoco (2008)

3.1.2. Análisis de varianza

Factor de Corrección:

$$CF = \frac{216^2}{4 \times 10}$$

$$CF = 1166.4$$

Suma de cuadrados muestra:

$$S_{sm} = \frac{((42)^2 + (63)^2 + (43)^2 + (68)^2)}{10} - 1166.4$$

$$S_{sm} = 54.2$$

Suma de cuadrados jueces:

$$S_{sj} = \frac{((21)^2 + (25)^2 + (24)^2 + (20)^2 + (22)^2 +$$

$$+ (15)^2 + (26)^2 + (21)^2 + (21)^2 + (21)^2)}{4} - 1166.4$$

$$S_{sj} = 21.1$$

Suma de cuadrados total:

$$\begin{aligned} \text{A. } & (3)^2 + (7)^2 + (4)^2 + (3)^2 + (4)^2 + (2)^2 + (5)^2 + (5)^2 + (5)^2 + (4)^2 \\ & = 194 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{B. } & (5)^2 + (6)^2 + (7)^2 + (6)^2 + (6)^2 + (5)^2 + (8)^2 + (7)^2 + (6)^2 + (7)^2 \\ & = 405 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{C. } & (6)^2 + (4)^2 + (6)^2 + (4)^2 + (5)^2 + (2)^2 + (6)^2 + (4)^2 + (4)^2 + (2)^2 \\ & = 205 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{D. } & (7)^2 + (8)^2 + (7)^2 + (7)^2 + (7)^2 + (6)^2 + (7)^2 + (5)^2 + (6)^2 + (8)^2 \\ & = 470 \end{aligned}$$

$$Sst = (194 + 405 + 205 + 470) - CF$$

$$Sst = (194 + 405 + 205 + 470) - 1166.4$$

$$Sst = 107.6$$

Suma de los cuadrados error:

$$Sse = Sst - Ssj - Ssm$$

$$Sse = 107.6 - 21.1 - 54.2$$

$$Sse = 32.3$$

Grados de libertad muestra:

$$Dfm = \# \text{muestras} - 1$$

$$Dfm = 4 - 1$$

$$Dfm = 3$$

Grados de libertad jueces:

$$Dfj = \# \text{jueces} - 1$$

$$Dfj = 10 - 1$$

$$Dfj = 9$$

Grados de libertad total:

$$Dft = \# \text{pruebas} - 1$$

$$Dft = 40 - 1$$

$$Dft = 39$$

Grados de libertad error:

$$Dfe = Dft - Dfj - Dfm$$

$$Dfe = 39 - 9 - 3$$

$$Dfe = 27$$

Cuadrado promedio muestra:

$$Msm = Ssm / Dfm$$

$$Msm = 54.2 / 3$$

$$Msm = 18.06$$

Cuadrado promedio jueces:

$$Msj = Ssj / Dfj$$

$$Msj = 21.1 / 9$$

$$Msj = 2.34$$

Cuadrado promedio error:

$$Mse = Sse / Dfe$$

$$Mse = 32.3 / 27$$

$$Mse = 1.20$$

Razón de la varianza muestra:

$$Fm = Msm / Mse$$

$$Fm = 18.06 / 1.20$$

$$Fm = 15.05$$

Razón de la varianza jueces:

$$F_j = M_{sj} / M_{se}$$

$$F_j = 2.34 / 1.20$$

$$F_j = 1.95$$

**CUADRO DE RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE LA
VARIANZA**

Fuente de varianza	df	ss	ms	F
Muestras	3	54.2	18.06	15.05
Jueces	9	21.1	2.34	1.95
Error	27	32.3	1.20	
Total	39	107.6		

- **Ver tabla 92 (APÉNDICE C)**

Varianza

1% para los atributos de F

f 1 grados de libertad

f2	f1(3)
38	4.34
39	x
40	4.31

interpolación:

$$\frac{40 - 38}{39 - 38} = \frac{4.31 - 4.34}{x - 4.34}$$

$$x = 4.325$$

Conclusión: Si el valor de F de muestras es mayor al valor de la tabla existe diferencia significativa. ($15.05 > 4.33$). Por lo tanto se puede concluir que si existe una diferencia significativa de las muestras de pan de yuca evaluadas.

3.1.3. Prueba de Tukey

Resultados de las muestras son:

A = 42 B= 63 C=43 D=68, los promedios son:

A = 4.2 B= 6.3 C=4.3 D=6.8, ordenamos, tenemos:

Ordenar de mayor a menor: D B C A

El error estándar es:

$$Se = \sqrt{\frac{Mse}{\# \text{ jueces}}}$$

$$Se = \sqrt{\frac{1.20}{10}}$$

$$Se = 0.35$$

- Ver Tabla de TUKEY (VER APÉNDICE D):

Dfe = 27

Dfe	#tratamientos (4)
24	3.90
27	x
30	3.84

interpolación:

$$\frac{30 - 24}{27 - 24} = \frac{3.84 - 3.90}{x - 3.90}$$

$$x = 3.87$$

$$\text{Diferencia significativa} = 3.87xSe$$

$$\text{Diferencia significativa} = 1.35$$

$$D-A = 6.8 - 4.2 = 2.6 > 1.35$$

$$D-C = 6.8 - 4.3 = 2.5 > 1.35$$

$$D-B = 6.8 - 6.3 = 0.5 < 1.35$$

$$B-A = 6.3 - 4.2 = 2.1 > 1.35$$

$$B-C = 6.3 - 4.3 = 2 > 1.35$$

$$C-A = 4.3 - 4.2 = 0.1 < 1.35$$

Conclusión: La muestra D tiene mayor aceptación que las muestras A,B y C, sin embargo la muestra B es la segunda que tiene mayor aceptación de las cuatro.

3.2.Prueba de comparación de pares

En el caso de esta investigación la prueba de comparaciones no nos indica el tamaño de la diferencia entre las 2 muestras pero determina si existe una diferencia detectable o no (12).

Para la prueba de comparación de pares se presenta un par de muestras codificadas para compararlas en base de alguna característica específica, en este caso textura .Menos muestras son requeridas y se prueban menos veces pero la probabilidad de adivinanza es del 50%.

Se empleó esta prueba para saber cual muestra tenía mejor textura entre dos panes de almidón de yuca con uno y dos días de elaboración, con lo cual se buscaba detectar cual de las dos es más agradable al consumidor. Las muestras fueron servidas en platos codificados a 8 jueces.

RESULTADOS:

TABLA 18
RESULTADOS DE PRUEBA COMPARACIÓN DE PARES

Jueces	A	B
1		x
2		x
3		x
4		x
5		x
6		x
7		x
8		x

Fuente: X.Tinoco (2008)

A: muestra con 2 días de elaboración

B: muestra con 1 día de elaboración

La prueba de comparación de pares dio como resultado que los 8 panelistas escogieron que la muestra que tenía un día de elaboración era la más agradable.

CONCLUSIÓN:

El pan de yuca que tiene mejor textura es el pan que tiene 24 horas de elaboración. Por lo tanto si existe diferencia detectable.

3.3.Pruebas de estabilidad

Para encontrar el tiempo de vida útil del pan de almidón de yuca es necesario determinar la estabilidad del mismo a similares condiciones de almacenamiento para encontrar así el tiempo máximo en que el producto pueda estar en percha sin perder sus características organolépticas iniciales.

3.3.1. Determinación de la humedad del producto final

El objetivo de la determinación de humedad del pan es establecer características físicas del producto.

Para la determinación de la humedad se realizaron algunas pruebas para caracterizar la existente en el pan de yuca cocinado. Primero se realizó la prueba de determinación de sólidos totales en el pan y posteriormente la de humedad según el APÉNDICE E (ANEXO A de la norma INEN 95 de Requisitos de pan común), ya que no existe una norma específica para el pan de almidón de yuca. Posterior a esto se realizaron pruebas a las 24h, 48h, 72h, 96h y a las 120h, para determinar si la humedad existente en el pan variaba con el paso de los días.

Ver procedimiento del APÉNDICE E.

❖ DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE SÓLIDOS
TOTALES EN EL PAN

Norma INEN 95 (1979)

TABLA 19
PESO DE LAS MUESTRAS

Masa	Peso (g)
m1	53.7938
m2	43,2462
m3	5,1239
m4	4,6399

Fuente: X.Tinoco (2008)

$$S = \frac{m_2 - m_4}{m_1 - m_3} \times 100$$

$$S = \frac{43.2462 - 4.6399}{53.7938 - 5.1239} \times 100$$

$$S = 79.32\%$$

El contenido de humedad se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$H = 100 - S$$

Siendo:

H = contenido de humedad en porcentaje de masa.

S = contenido de sólidos totales en porcentaje de masa.

$$H = 100 - 79.32$$

$$H = 20.68\%$$

3.3.2. Determinación de la estabilidad microbiológica y de humedad

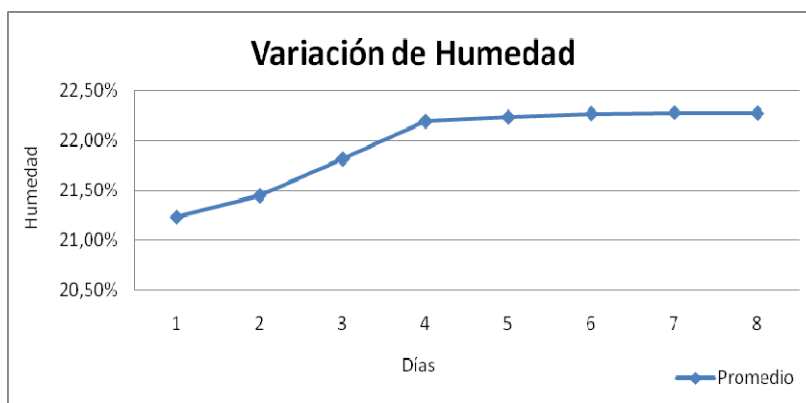
El objetivo de determinar la estabilidad microbiológica y de humedad del pan de almidón de yuca es encontrar cuales son las posibles causas de deterioro del pan.

Para la determinación de variación de la Humedad se hicieron pruebas por duplicado en el laboratorio de Microbiología con la técnica (APÉNDICE F), y se obtuvieron los siguientes resultados.

TABLA 20
TABLA DE HUMEDAD

DIA	Prueba 1	Prueba 2	Promedio
1	21,10%	21,36%	21,23%
2	21,26%	21,63%	21,45%
3	21,85%	21,78%	21,82%
4	22,19%	22,20%	22,20%
5	22,20%	22,27%	22,24%
6	22,26%	22,28%	22,27%
7	22,27%	22,29%	22,28%
8	22,15%	22,40%	22,28%

Fuente: X.Tinoco (2008)



Fuente: X.Tinoco (2008)

FIGURA 3.1. VARIACIÓN DE HUMEDAD

La figura indica que la humedad en el pan de yuca cocinado tiene un ligero incremento en los cuatro primeros días. A partir del quinto día tiene un incremento aún menor y en cambio a partir del séptimo día la humedad se mantiene constante lo que indica que el pan ya no absorbe humedad del medio externo.

Este proceso de absorción de agua indica que el pan empieza a perder sus buenas características organolépticas, haciéndolo así un pan no agradable ni comestible por el consumidor.

❖ **DETERMINACIÓN DE AEROBIOS TOTALES**

El objetivo de determinar si existe o no un elevado contaje de aerobios totales es para considerar si el pan es apto para el consumo.

Para la determinación de Aerobios Totales se siguió el procedimiento de la práctica ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS FRESCOS- PROCESADOS RECuento DE MICROORGANISMOS DE MESÓFILOS TOTALES, que se encuentra en el APÉNDICE G.

Se realizaron pruebas por duplicado de acuerdo a la técnica y se obtuvieron los siguientes datos:

TABLA 21
NUMERO DE COLONIAS DE AEROBIOS TOTALES
(por duplicado)

PCA	DILUCIONES			
	10^{-1}		10^{-2}	
Día	No. colonias		No. colonias	
1	3	6	1	1
2	10	13	0	0
3	7	11	2	3
4	4	8	1	2
5	6	7	0	3
6	8	8	2	4

Fuente: X.Tinoco (2008)

❖ RESULTADOS:

De acuerdo a la técnica (APÉNDICE G). Se contaron todas las colonias de la caja (tabla). Se sacaron los promedios de los dos puntajes y se multiplicó por el inverso de la dilución usada.

Como la muestra es un sólido se expresa como UFC/g.

$$UFC : CxDxF$$

Donde:

UFC: Unidades formadoras de colonias

C: Número de colonias

D: Inverso de la dilución

F: Factor de siembra (no se lo utilizó)

De acuerdo a la técnica como en todas las diluciones presentaron menos de 30 colonias se tomará en cuenta para los cálculos los valores de la dilución más concentrada realizada; es decir, la dilución 10^{-1} .

(APÉNDICE G).

TABLA 22

RESULTADO DEL RECuento DE AEROBIOS

TOTALES

	DILUCIÓN
	10^{-1}
Día	UFC
1	45
2	115
3	90
4	60
5	65
6	80

Fuente: X.Tinoco (2008)

❖ **DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECAL**

El objetivo de la determinación de coliformes fecal es para indicar la inocuidad del pan.

Para la determinación de Coliformes Totales se siguió el procedimiento de la práctica ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS FRESCOS- PROCESADOS. DETERMINACIÓN DE INDICADORES DE FALTA DE HIGIENE. DETECCIÓN DE COLIFORMES FECAL, que se encuentra en el APÉNDICE H.

Se realizaron pruebas por triplicado de acuerdo a la técnica y se obtuvieron los siguientes resultados:

TABLA 23
RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES
(por triplicado)

COLIFORMES TOTALES									
Día	DILUCIONES								
	10 ⁻¹			10 ⁻²			10 ⁻³		
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fuente: X.Tinoco (2008)

❖ **RESULTADOS:**

Se puede observar en la tabla que durante los seis primeros días de vida útil del pan de almidón de yuca no existe presencia de Coliformes totales, lo que a su vez demuestra la no existencia de Coliformes fecales.

❖ **DETERMINACIÓN DE MOHOS Y LEVADURAS**

Como el principal agente indicador de deterioro del pan son los mohos y levaduras es necesario hacer un recuento para conocer el momento en que la presencia de ellos altere el sabor, color y aroma del producto.

Para la determinación de Mohos y Levaduras se siguió el procedimiento de la práctica ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS FRESCOS- PROCESADOS. RECUENTO DE MOHOS Y LEVADURAS, que se encuentra en el APÉNDICE I.

Se realizaron pruebas por duplicado de acuerdo a la técnica y se obtuvieron los siguientes resultados:

TABLA 24
NUMERO DE COLONIAS DE MOHOS Y LEVADURAS
(por duplicado)

PDA	DILUCIONES			
	10^{-1}		10^{-2}	
Día	No. colonias		No. colonias	
1	1	3	0	1
2	3	3	1	1
3	4	3	2	2
4	4	4	1	0
5	5	6	2	2
6	5	7	3	2

Fuente: X.Tinoco (2008)

❖ **RESULTADOS:**

De acuerdo a la técnica (APÉNDICE I). Se contaron todas las colonias de la caja (tabla). Se sacaron los promedios de los dos puntajes y se multiplicó por el inverso de la dilución usada. Como la muestra es un sólido se expresa como UFC/g.

$$UFC : CxDxF$$

Donde:

UFC: Unidades formadoras de colonias

C: Número de colonias

D: Inverso de la dilución

F: Factor de siembra (no se lo utilizó)

De acuerdo a la técnica como en todas las diluciones presentaron menos de 30 colonias se tomará en cuenta para los cálculos los valores de la dilución más concentrada realizada; es decir, la dilución 10^{-1} .
(APÉNDICE G).

TABLA 25

**RESULTADO DEL RECUENTO DE MOHOS Y
LEVADURAS**

	DILUCIÓN
	10^{-1}
Día	UFC
1	20
2	30
3	35
4	40
5	55
6	60

Fuente: X.Tinoco (2008)

TABLA 26
CUADRO DE RESUMEN DE VARIABLES

VARIABLES	Humedad (%)	Aerobios (ufc/g)	Coliformes (ufc/g)	Mohos (ufc/g)
<i>Día 1</i>	21,23	45	0	20
<i>Día 2</i>	21,45	115	0	30
<i>Día 3</i>	21,82	90	0	35
<i>Día 4</i>	22,2	60	0	40
<i>Día 5</i>	22,24	65	0	55
<i>Día 6</i>	22,27	80	0	60
<i>Día 7</i>	22,28	*	*	*
<i>Día 8</i>	22,28	*	*	*

*No se hicieron pruebas

Fuente: X.Tinoco (2008)

❖ ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para la determinación del tiempo de vida útil se consideraron los límites permitidos por las normas NTE INEN, que se muestran en el APENDICE J.

De acuerdo a los resultados se puede establecer que el pan de yuca hasta el cuarto día todavía se encuentra en los límites de aceptabilidad ya que los aerobios, coliformes, mohos y levaduras se encuentran en los rangos permitidos.

Sin embargo, a partir del quinto día las UFC/g de mohos y levaduras permitidas en el pan sobrepasan los límites establecidos, ya que un pan de acuerdo a la norma NTE-INEN 1529-10:98 puede tener tan sólo 50 UFC/g y es aquí en el sexto día que el pan tiene 55 UFC/g de mohos y levaduras. (Ver figura 3.2)

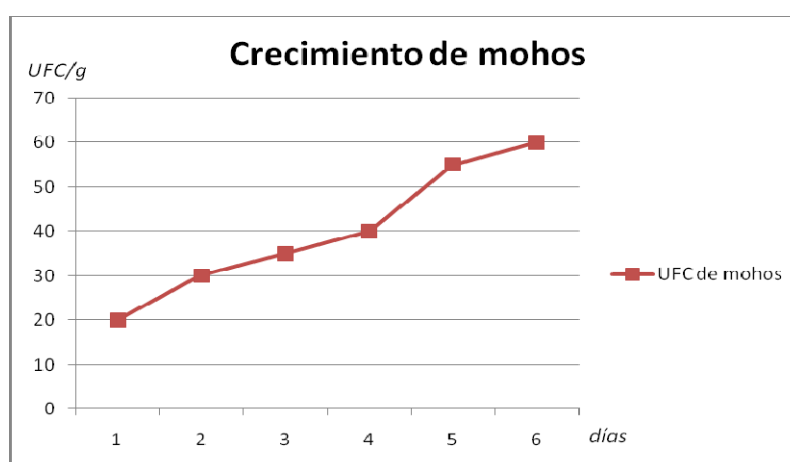


FIGURA 3.2. CRECIMIENTO DE MOHOS

Lo que quiere decir que el pan de almidón de yuca tiene un tiempo de vida útil de 4 días de acuerdo a la norma anteriormente citada.

3.3.3. Determinación de la vida útil

Se entiende por vida útil al período de tiempo, después de su elaboración y envasado, durante el cual el producto

mantiene el nivel requerido de características organolépticas y cualidades de seguridad, bajo condiciones normales de conservación.

Para evaluar la vida útil de un alimento es necesario conocer los principales indicadores de deterioro. Para el pan de almidón de yuca el factor más importante es el recuento de mohos y levaduras ya que su existencia indica que el producto está deteriorándose.

Se hicieron pruebas de estabilidad para determinar en qué tiempo las unidades formadoras de colonias de mohos y levaduras del pan iban a sobrepasar el límite máximo permitido para este tipo de producto (15).

Se determinó luego de la experimentación que a los cuatro días el pan tiene 40 UFC/g lo que indica que todavía está en el límite permitido (< 50 UFC/g) pero al quinto sobrepasa el límite (55 UFC/g). Esto quiere decir que su tiempo de vida útil es de cuatro días.

- **Estimación de vida útil a diferentes temperaturas.-**

Para la determinación de vida útil se consideró un modelo matemático utilizando el concepto Q_{10} , el cual indica el número de veces que se modifica la velocidad de una reacción de deterioro cuando la temperatura es variada en 10°C.

$$Q_{10} = \frac{(dA/dt)_{(T+10)}}{(dA/dt)_{(T)}}$$

Donde:

Q_{10} es el factor de aceleración

(dA/dt) es la velocidad de degradación del atributo A en relación al tiempo t.

Sabiendo que el tiempo de vida útil, Q_{10} es inversamente proporcional a la velocidad de deterioro, se puede expresar el valor de Q_{10} de la siguiente manera:

$$Q_{10} = \frac{\theta_{s(T)}}{\theta_{s(T+10)}}$$

Donde:

θ_s es el tiempo de vida útil

T es la temperatura en grados Kelvin

A partir de estos conceptos es posible de desarrollar la siguiente ecuación, que permite estimar el tiempo de vida útil para un cambio de temperatura diferente a 10°C, en base a condiciones conocidas.

$$\theta_{s(T)} = \theta_{s(Tref)} Q_{10}^{(Tref-T)/10} \quad \text{ec. 3.1.}$$

Donde:

$Tref$ es la temperatura de referencia

Finalmente, es posible encontrar θ_s si lo relacionamos con la energía de activación, que es una medida de la cantidad de energía que se requiere para que el indicador de deterioro inicie la reacción.

$$\log_{10} Q_{10} = \frac{2.189E_a}{T(T+10)} \quad \text{ec. 3.2.}$$

Donde:

Ea es la energía de activación

NOTA: las unidades de la constante 2.189 están dadas de manera que el valor de Q_{10} sea adimensional. Para ello las unidades de E_a deben ser kcal/mol y la temperatura debe de estar dada en °K.

Según los datos de estabilidad el pan de almidón de yuca tiene un tiempo de vida útil de 4 días a temperatura ambiente (28 °C). Esta temperatura será la de referencia.

Ya que no se conoce el valor experimental de Q_{10} se procederá a encontrarlo usando la ecuación **3.2**. Se debe recordar que las temperaturas a utilizar deben ser absolutas, de manera que los 28 °C equivalgan a 301 °K.

$$^{\circ}K = ^{\circ}C + 273$$

$$^{\circ}K = 28^{\circ}C + 273 = 301^{\circ}K$$

$$Q_{10} = 10^{\frac{(2.189)(40000)}{301(301+10)}} = 8.61$$

Por otro lado, se desea determinar el tiempo de vida útil del pan de almidón de yuca a 20 °C (293°K). Considerando que el pan pueda ser llevado a un ciudad con clima más fresco.

$$^{\circ}K = 20^{\circ}C + 273 = 293^{\circ}K$$

$$Q_{10} = 10^{\frac{(2.189)(40000)}{293(293+10)}} = 9.68$$

Para utilizar la ec. 3.1. se requiere un solo valor Q_{10} por lo tanto los valores para 20 °C deberán ser promediados con el valor de Q_{10} para 28 °C. Luego se reemplaza el Q_{10} obtenido en la ecuación

$$Q_{10} = 9.15$$

$$\theta_{s(35)} = \theta_{s(28)} Q_{10}^{(20-35)/10}$$

$$\theta_{s(35)} = 4(9.15)^{(20-35)/10} = 0.14 \text{ días es el tiempo de vida útil a } 20^{\circ}\text{C.}$$

CAPITULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

1. Para retardar el envejecimiento del pan de almidón de yuca es necesario una correcta formulación a base de ingredientes que funcionen como emulsificantes como es el caso de las grasas que retrasan la retrogradación del almidón ya que su uso genera una formación de una mezcla homogénea.
2. El aditivo que permitió que el pan de yuca se mantenga con mejores características organolépticas después de permanecer por más tiempo a temperatura ambiente fue la goma xanthan debido a su función de estabilizante y de retrasar el proceso de retrogradación en almidones y sinéresis de otros geles.

3. El envejecimiento del pan de almidón de yuca sucede aún cuando se encuentre sellado en un empaque a prueba de humedad.
4. La enzima maltogénica no reaccionó en el pan de yuca porque su pH es diferente (pH = 5.1) al de la masa panaria común y la enzima ha sido diseñada para productos de panificación a base de harina de trigo, que normalmente tienen un pH menor (pH \approx 4.2).
5. Los resultados obtenidos mostraron que la principal causa de la disminución del tiempo de vida útil del pan de almidón de yuca es su textura y no su carga microbiana debido a que la textura determina el agrado o rechazo del consumidor y es la primera en perderse.
6. El pan de almidón de yuca obtuvo microbiológicamente un tiempo de vida útil de 4 días, y sensorialmente alcanzó un tiempo de vida útil de 1 día sin necesidad de un recalentamiento y conservando sus similares características iniciales.

Recomendaciones:

1. Para que el pan adquiera mejor textura es necesario que la cocción se realice en un horno de panadería ya que el calentamiento es más uniforme y permite que el pan adquiera mejor textura.
2. Para contrarrestar el efecto del envejecimiento del pan de almidón de yuca se lo puede someter a recalentamiento siempre y cuando el almidón presente en el pan no se haya retrogradado en su totalidad.
3. Para reproducir los resultados se recomienda efectuar pruebas a gran escala para determinar la factibilidad del producto.
4. Se recomienda evaluar el impacto del costo de los aditivos usados en función del mayor tiempo de almacenamiento.
5. Para obtener mejores resultados se puede sustituir una cantidad del almidón de yuca por mezclas con otro tipo de harinas, por ejemplo de trigo.
6. Se recomienda hacer pruebas de estabilidad en empaques con atmósfera controlada para determinar si se puede retrasar el

endurecimiento del pan impidiendo que absorba humedad del medio ambiente y pueda permanecer por más tiempo en percha en condiciones adecuadas.

BIBLIOGRAFÍA

1. AGROINDUSTRIAL-MANDIOCA, Composición Química del Almidón, 2006, formato html, Disponible en internet:
<http://www.mandioca.com.ve/productos.asp>
2. BERNARDO OSPINA, CLAYUCA, Obtención de almidón de yuca, 2006, formato html, Disponible en internet:
<http://www.clayuca.org/procesamiento.htm>.
3. CALVO MIGUEL, Bioquímica de los alimentos, Goma Xanthan, Formato html, Disponible en internet:
<http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/azucares/xantana.html>
4. CHARLEY HELEN, Tecnología de alimentos, Procesos químicos y físicos en la preparación de alimentos, Editorial Limusa S.A.
5. CIAT, ADAPTADO DE BUITRAGO, 2001, formato html, Disponible en internet:
http://www.ciat.cgiar.org/agroempresas/sistema_yuca/yuca.htm.

6. CUBERO N., MONFERRER A. Aditivos alimentarios, Colección Tecnología de alimentos.
7. ELERGONOMISTA, Elaboración de pan, 2006, Formato html, Disponible en internet:
<http://www.elergonomista.com/alimentos/panificacion.htm>.
8. ENZYME BUSINESS, Ficha de aplicación, Novamyl para el antiendurecimiento, 2007.
9. GARCÍA OCHOA, Goma Xanthan, 2008, Formato html, Disponible en internet:
<http://es.wikipedia.org/wiki/Xantano>
10. GILBERTH AYRES, Análisis químico cuantitativo del EDTA editorial Harla 1970, 2006. formato html, Disponible en internet:
<http://www.doschivos.com/trabajos/tecnologia/743.htm>
11. MULTON J.L., Aditivos y auxiliares de fabricación en las INDUSTRIAS agroalimentarias, Editorial Acribia, S.A.

12. REYES MARIELLA, Copias de la Cátedra de Evaluación Sensorial de Alimentos “Evaluación sensorial”,2007
- 13.SACOTO VIVIANA, SANTANA HUGO, “Proyecto de producción de almidón de yuca en la provincia de Los Ríos para su exportación”(Tesis, Instituto de Ciencias Humanísticas y Económicas. Escuela Superior Politécnica del Litoral, 2003)
- 14.SALVADOR BADUI, Química de los alimentos, Editorial Alhambra Mexicana, S.A.
- 15.SEMINARIO, DIANA, “Diseño del proceso de elaboración de un subproducto e banano deshidratado” ”(Tesis, Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción”. Escuela Superior Politécnica del Litoral, 2006)
- 16.SICA, La yuca, 2006, formato html, Disponible en internet:
<http://www.sica.gov.ec/cadenas/yuca/docs/cadena.htm>.

APÉNDICE A

MATRIZ DE DECISIÓN PARA ESOGER LAS FORMULACIONES MEJORES

Criterio de Evaluación del modelo	Peso	PRUEBA 1		PRUEBA 2		PRUEBA 3		PRUEBA 4		PRUEBA 5		PRUEBA 6		PRUEBA 7		PRUEBA 8		PRUEBA 9	
		Valor	Equivalencia	Valor	Equivalencia	Valor	Equivalencia	Valor	Equivalencia	Valor	Equivalencia	Valor	Equivalencia	Valor	Equivalencia	Valor	Equivalencia	Valor	Equivalencia
TEXTURA (luego de cocción)	5	2	10	1	5	1	5	2	10	1	5	1	5	1	5	1	5	2	10
DURABILIDAD	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	0	0	0	0	0	0	0	0
SABOR	3	2	6	3	9	3	9	2	6	2	6	2	6	2	6	2	6	1	3
COLOR	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
AROMA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
TOTAL			23		21		21		23		18		13		13		13		15

Fuente: X.Tinoco (2008)

PESO:

TEXTURA 5 puntos

DURABILIDAD 5 puntos

SABOR 3 puntos

AROMA 1 punto

AROMA 1 punto

Los puntajes se los estableció considerando la importancia de cada criterio. Siendo 5 los más importantes.

APÉNDICE B

OBSERVACIONES DE LAS FORMULACIONES DEL PAN DE ALMIDÓN DE YUCA

	PRUEBA 1	PRUEBA 2	PRUEBA 3	PRUEBA 4	PRUEBA 5
APARIENCIA EXTERNA	Harinosa	Característica	Harinosa	Harinosa	Típica del pan de yuca
APARIENCIA INTERNA	Cruda	Presentó un vacío provocado por el exceso de agua en la formulación, esto hizo que el agua se evaporara provocando un orificio en el interior del pan.	Cruda	Harinosa y cruda	Gelatinosa
HORNEO	La prueba se realizó repetidas veces en tres tipos de horno (artesanal, eléctrico, industrial) con lo cual se observó que la cocción en cada uno era diferente. En el artesanal, la textura era más uniforme, en el eléctrico se tostaban muy rápido, y en el horno industrial (con ventilador en el interior), la textura del pan se deformaba, ya que al cocinarse se le formaba una especie de grieta en su interior con dirección al ventilador. Esto se debió al aire que circulaba en el interior del horno. Chocaba con la pared y el aire caliente regresaba en dirección al ventilador.	Horno artesanal	Horno artesanal. El pan luego de estar por poco tiempo expuesto al ambiente se tornaba muy duro, debido a lo poca cantidad de líquido en su formulación.	Horno artesanal. Con sabor diferente al característico del pan de yuca tradicional.	Horno artesanal. Su sabor era muy fuerte a yuca y era muy blanco, (esto al salir del horno). Sin embargo con esta fórmula se pudo identificar que es muy importante la necesidad de mayor cantidad de grasa proporcionada por el queso, leche, huevos; ya que este pan a las pocas horas se tornó muy duro, y luego de dos días tenía una textura excesivamente dura.

Fuente: X.Tinoco (2008)

APÉNDICE C

TABLA DE VARIANZA

TABLA 92
VARIANCE RATIOS (F)
Puntos 5% (claras) y 1% (negritas) para los atributos de F

f ₂	f ₁ grados de libertad (for greater mean square)																									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	20	24	30	40	50	75	100	200	500	∞		
1	161 4.852	200 4.999	216 5.062	225 5.125	230 5.174	234 5.219	237 5.258	239 5.291	241 5.320	242 5.346	243 5.368	244 5.386	245 5.401	246 5.415	248 5.438	249 5.454	250 5.468	251 5.481	252 5.493	253 5.505	254 5.516	254 5.527	254 5.537	254 5.547		
2	18.51 98.69	19.00 99.09	19.16 99.17	19.25 99.25	19.30 99.30	19.33 99.33	19.36 99.36	19.37 99.38	19.38 99.40	19.40 99.41	19.42 99.42	19.43 99.43	19.44 99.44	19.45 99.45	19.46 99.46	19.47 99.47	19.47 99.48	19.48 99.49	19.48 99.49	19.49 99.49	19.49 99.49	19.50 99.50	19.50 99.50	19.50 99.50		
3	10.13 34.12	9.55 28.82	9.28 28.46	9.12 28.21	9.01 28.04	8.94 27.91	8.88 27.87	8.84 27.89	8.81 27.94	8.78 27.97	8.76 28.03	8.74 28.05	8.71 28.09	8.69 28.12	8.66 28.15	8.64 28.19	8.62 28.22	8.60 28.25	8.58 28.28	8.57 28.31	8.56 28.34	8.55 28.37	8.54 28.40	8.53 28.43		
4	7.71 21.20	6.94 18.00	6.59 16.69	6.39 15.98	6.26 15.52	6.16 15.21	6.09 14.98	6.04 14.80	6.00 14.66	5.96 14.54	5.93 14.45	5.91 14.37	5.87 14.28	5.84 14.18	5.80 14.02	5.77 13.93	5.74 13.83	5.71 13.74	5.70 13.69	5.68 13.61	5.66 13.57	5.65 13.52	5.64 13.48	5.63 13.44		
5	6.61 16.26	5.79 13.27	5.41 12.06	5.19 11.39	5.05 10.97	4.95 10.67	4.89 10.45	4.82 10.27	4.78 10.15	4.74 10.05	4.70 9.96	4.68 9.89	4.64 9.77	4.60 9.68	4.56 9.55	4.53 9.47	4.50 9.38	4.46 9.29	4.44 9.25	4.42 9.20	4.40 9.17	4.38 9.13	4.37 9.07	4.36 9.02		
6	5.99 12.74	5.14 10.92	4.76 9.78	4.53 9.15	4.39 8.75	4.28 8.47	4.21 8.26	4.15 8.10	4.10 7.98	4.06 7.87	4.03 7.79	4.00 7.72	3.96 7.66	3.92 7.60	3.87 7.52	3.84 7.49	3.81 7.41	3.77 7.32	3.75 7.29	3.72 7.22	3.71 7.14	3.69 7.09	3.68 7.02	3.67 6.98		
7	5.59 12.25	4.74 9.55	4.35 8.45	4.12 7.85	3.97 7.46	3.87 7.19	3.79 7.00	3.73 6.84	3.68 6.71	3.63 6.62	3.60 6.54	3.57 6.47	3.52 6.35	3.49 6.27	3.44 6.15	3.41 6.07	3.38 5.99	3.34 5.90	3.32 5.85	3.29 5.78	3.28 5.70	3.25 5.65	3.24 5.61	3.23 5.57		
8	5.32 11.26	4.46 8.65	4.07 7.59	3.84 7.01	3.69 6.63	3.58 6.27	3.50 6.19	3.44 6.03	3.39 5.91	3.34 5.82	3.31 5.74	3.28 5.67	3.23 5.55	3.20 5.48	3.15 5.36	3.12 5.28	3.08 5.20	3.05 5.11	3.03 5.06	3.00 5.00	2.98 4.96	2.96 4.91	2.94 4.88	2.93 4.85		
9	5.12 10.56	4.26 8.02	3.86 6.99	3.63 6.42	3.48 6.06	3.37 5.80	3.29 5.62	3.23 5.47	3.18 5.35	3.13 5.26	3.10 5.18	3.07 5.11	3.02 5.00	2.98 4.92	2.93 4.80	2.90 4.73	2.86 4.64	2.82 4.56	2.80 4.51	2.77 4.45	2.76 4.41	2.73 4.36	2.72 4.33	2.71 4.31		
10	4.96 10.04	4.10 7.56	3.71 6.55	3.48 6.05	3.33 5.69	3.22 5.44	3.14 5.29	3.07 5.21	3.02 5.06	2.97 4.95	2.94 4.85	2.91 4.78	2.86 4.66	2.82 4.52	2.77 4.41	2.74 4.33	2.70 4.25	2.67 4.17	2.64 4.12	2.61 4.05	2.59 4.01	2.56 3.96	2.55 3.92	2.54 3.89		
11	4.84 9.65	3.98 7.20	3.59 6.22	3.36 5.67	3.20 5.32	3.09 5.07	3.01 4.88	2.95 4.74	2.90 4.63	2.86 4.54	2.82 4.46	2.79 4.40	2.74 4.29	2.70 4.21	2.65 4.10	2.61 4.02	2.57 3.94	2.53 3.86	2.50 3.80	2.47 3.76	2.45 3.70	2.42 3.66	2.41 3.62	2.40 3.60		
12	4.75 9.33	3.88 6.93	3.49 5.95	3.26 5.41	3.11 5.06	3.00 4.82	2.92 4.65	2.85 4.50	2.80 4.39	2.76 4.30	2.72 4.22	2.69 4.16	2.64 4.05	2.60 3.98	2.54 3.86	2.50 3.78	2.46 3.70	2.42 3.61	2.40 3.56	2.36 3.49	2.35 3.45	2.32 3.41	2.31 3.38	2.30 3.36		
13	4.67 9.07	3.80 6.70	3.41 5.74	3.18 5.20	3.02 4.85	2.92 4.62	2.84 4.44	2.77 4.30	2.72 4.19	2.67 4.10	2.63 4.02	2.60 3.96	2.55 3.85	2.51 3.78	2.46 3.67	2.42 3.59	2.38 3.51	2.34 3.43	2.32 3.37	2.28 3.30	2.27 3.26	2.24 3.21	2.22 3.18	2.21 3.16		
14	4.60 8.86	3.74 6.51	3.34 5.56	3.11 5.03	2.96 4.68	2.85 4.45	2.77 4.28	2.70 4.14	2.65 4.03	2.60 3.94	2.56 3.86	2.53 3.80	2.48 3.70	2.44 3.62	2.39 3.51	2.35 3.43	2.31 3.36	2.27 3.28	2.24 3.21	2.21 3.14	2.19 3.11	2.16 3.08	2.14 3.05	2.13 3.03		
15	4.54 8.68	3.68 6.36	3.29 5.42	3.06 4.89	2.90 4.56	2.79 4.32	2.70 4.14	2.64 4.00	2.59 3.89	2.55 3.80	2.51 3.73	2.48 3.67	2.43 3.56	2.39 3.48	2.33 3.38	2.29 3.30	2.25 3.22	2.21 3.15	2.18 3.07	2.15 3.02	2.12 2.97	2.10 2.92	2.08 2.89	2.07 2.87		
16	4.49 8.53	3.63 6.23	3.24 5.29	3.01 4.77	2.85 4.44	2.74 4.20	2.66 4.02	2.59 3.89	2.54 3.78	2.49 3.69	2.45 3.61	2.42 3.55	2.37 3.45	2.33 3.37	2.28 3.25	2.24 3.18	2.20 3.10	2.16 3.01	2.13 2.96	2.09 2.89	2.07 2.84	2.04 2.80	2.02 2.77	2.01 2.75		
17	4.45 8.40	3.59 6.11	3.20 5.18	2.96 4.67	2.81 4.34	2.70 4.10	2.62 3.93	2.55 3.79	2.50 3.68	2.45 3.59	2.41 3.51	2.38 3.43	2.33 3.35	2.29 3.27	2.23 3.16	2.19 3.08	2.15 3.00	2.11 2.92	2.08 2.86	2.04 2.79	2.02 2.76	1.99 2.73	1.97 2.70	1.96 2.68		
18	4.41 8.30	3.55 6.01	3.16 5.09	2.93 4.58	2.77 4.26	2.66 4.01	2.58 3.85	2.51 3.71	2.46 3.60	2.41 3.51	2.37 3.44	2.34 3.37	2.29 3.27	2.25 3.19	2.19 3.07	2.15 3.00	2.11 2.91	2.07 2.83	2.04 2.78	2.00 2.71	1.98 2.68	1.95 2.65	1.93 2.62	1.92 2.59		
19	4.38 8.18	3.52 5.93	3.13 5.01	2.90 4.50	2.74 4.17	2.63 3.94	2.55 3.77	2.48 3.63	2.43 3.52	2.38 3.43	2.34 3.36	2.31 3.29	2.26 3.19	2.21 3.12	2.15 3.00	2.11 2.92	2.07 2.84	2.02 2.76	2.00 2.70	1.96 2.63	1.94 2.60	1.91 2.57	1.89 2.54	1.88 2.52		
20	4.35 8.10	3.49 5.85	3.10 4.94	2.87 4.43	2.71 4.10	2.60 3.87	2.52 3.71	2.45 3.56	2.40 3.45	2.35 3.37	2.31 3.29	2.28 3.21	2.23 3.13	2.18 3.05	2.12 2.94	2.08 2.86	2.04 2.77	2.00 2.69	1.99 2.63	1.96 2.56	1.92 2.53	1.90 2.47	1.87 2.44	1.84 2.42		
21	4.32 8.02	3.47 5.78	3.07 4.97	2.84 4.47	2.68 4.14	2.57 3.91	2.49 3.75	2.42 3.59	2.37 3.48	2.32 3.39	2.28 3.31	2.25 3.24	2.20 3.17	2.15 3.07	2.09 2.98	2.05 2.88	2.00 2.77	1.96 2.68	1.93 2.63	1.91 2.57	1.89 2.51	1.87 2.47	1.84 2.42	1.82 2.38		
22	4.30 7.97	3.44 5.72	3.05 4.82	2.82 4.31	2.66 3.99	2.55 3.76	2.47 3.59	2.40 3.45	2.35 3.35	2.30 3.26	2.26 3.18	2.23 3.12	2.18 3.02	2.13 2.94	2.07 2.83	2.03 2.75	1.98 2.67	1.93 2.58	1.91 2.53	1.89 2.48	1.87 2.42	1.84 2.38	1.82 2.33	1.81 2.31		
23	4.28 7.88	3.42 5.66	3.03 4.76	2.80 4.26	2.64 3.95	2.53 3.71	2.45 3.54	2.38 3.41	2.32 3.30	2.28 3.21	2.24 3.14	2.20 3.07	2.14 2.97	2.10 2.89	2.04 2.78	1.98 2.70	1.93 2.62	1.88 2.53	1.84 2.48	1.81 2.43	1.79 2.38	1.77 2.33	1.76 2.30	1.76 2.28		
24	4.26 7.83	3.40 5.61	3.01 4.72	2.78 4.22	2.62 3.90	2.51 3.67	2.43 3.50	2.36 3.34	2.30 3.25	2.26 3.17	2.22 3.09	2.18 3.03	2.13 2.93	2.09 2.85	2.02 2.74	1.98 2.66	1.94 2.58	1.89 2.49	1.86 2.44	1.84 2.36	1.81 2.33	1.79 2.27	1.77 2.23	1.76 2.21		
25	4.24 7.77	3.38 5.57	2.99 4.68	2.76 4.18	2.60 3.86	2.49 3.63	2.41 3.44	2.34 3.32	2.28 3.21	2.24 3.13	2.20 3.05	2.16 2.99	2.11 2.89	2.06 2.81	2.00 2.70	1.96 2.62	1.92 2.54	1.87 2.45	1.84 2.40	1.80 2.32	1.77 2.29	1.74 2.23	1.72 2.19	1.71 2.17		
26	4.22 7.72	3.37 5.53	2.98 4.64	2.74 4.14	2.59 3.82	2.47 3.59	2.40 3.42	2.32 3.29	2.27 3.17	2.22 3.09	2.18 3.02	2.15 2.96	2.10 2.88	2.05 2.77	1.99 2.66	1.95 2.58	1.90 2.50	1.85 2.41	1.82 2.36	1.78 2.28	1.76 2.25	1.72 2.19	1.70 2.15	1.69 2.13		

f_2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	20	24	30	40	50	75	100	200	500	∞	
27	4.21 7.68	3.35 5.99	2.96 4.80	2.73 4.11	2.57 3.79	2.46 3.56	2.37 3.39	2.30 3.26	2.25 3.14	2.20 3.06	2.16 2.98	2.13 2.93	2.08 2.83	2.03 2.74	1.97 2.63	1.93 2.55	1.88 2.47	1.84 2.38	1.80 2.33	1.76 2.28	1.74 2.23	1.71 2.21	1.68 2.16	1.67 2.12	1.67 2.10
28	4.20 7.64	3.34 5.95	2.95 4.87	2.71 4.07	2.56 3.76	2.44 3.52	2.36 3.36	2.29 3.23	2.24 3.11	2.19 3.03	2.15 2.95	2.12 2.90	2.06 2.80	2.02 2.71	1.96 2.60	1.91 2.52	1.87 2.44	1.81 2.35	1.78 2.30	1.75 2.22	1.72 2.18	1.69 2.15	1.67 2.10	1.65 2.06	1.64 2.03
29	4.18 7.60	3.33 5.92	2.93 4.84	2.70 4.04	2.54 3.73	2.43 3.50	2.43 3.33	2.28 3.20	2.22 3.08	2.18 3.00	2.14 2.92	2.10 2.84	2.03 2.76	2.00 2.68	1.94 2.57	1.90 2.49	1.85 2.41	1.80 2.32	1.77 2.27	1.73 2.19	1.71 2.15	1.68 2.10	1.66 2.06	1.64 2.02	1.63 2.00
30	4.17 7.58	3.32 5.89	2.92 4.81	2.69 4.02	2.53 3.70	2.42 3.47	2.34 3.30	2.27 3.17	2.21 3.06	2.16 2.98	2.12 2.90	2.09 2.84	2.04 2.74	1.99 2.66	1.93 2.55	1.89 2.47	1.84 2.38	1.81 2.29	1.79 2.24	1.76 2.16	1.72 2.12	1.69 2.08	1.66 2.04	1.64 2.00	1.62 1.98
32	4.15 7.50	3.30 5.84	2.90 4.84	2.67 3.97	2.51 3.66	2.40 3.42	2.32 3.25	2.25 3.12	2.19 3.01	2.14 2.94	2.10 2.80	2.07 2.84	2.02 2.76	1.97 2.66	1.91 2.52	1.86 2.42	1.82 2.34	1.76 2.25	1.74 2.20	1.69 2.12	1.67 2.08	1.64 2.02	1.61 1.98	1.59 1.94	1.57 1.91
34	4.13 7.44	3.28 5.79	2.88 4.82	2.65 3.92	2.49 3.61	2.38 3.38	2.30 3.21	2.23 3.08	2.17 2.97	2.12 2.89	2.08 2.82	2.05 2.76	2.00 2.66	1.95 2.58	1.89 2.47	1.84 2.38	1.80 2.30	1.74 2.21	1.71 2.15	1.67 2.08	1.64 2.04	1.61 1.99	1.59 1.94	1.57 1.91	1.55 1.88
36	4.11 7.39	3.26 5.75	2.86 4.78	2.63 3.89	2.48 3.58	2.36 3.35	2.28 3.25	2.21 3.10	2.15 2.98	2.10 2.86	2.06 2.78	2.03 2.71	1.98 2.61	1.93 2.54	1.87 2.43	1.82 2.35	1.78 2.26	1.72 2.17	1.69 2.12	1.65 2.04	1.62 2.00	1.58 1.94	1.56 1.90	1.54 1.86	1.52 1.84
38	4.10 7.25	3.25 5.71	2.85 4.84	2.62 3.84	2.46 3.54	2.35 3.32	2.26 3.15	2.19 3.02	2.14 2.91	2.09 2.82	2.05 2.75	2.02 2.69	1.96 2.59	1.92 2.51	1.85 2.40	1.80 2.32	1.76 2.22	1.71 2.14	1.67 2.08	1.63 2.00	1.60 1.97	1.57 1.90	1.54 1.86	1.51 1.84	1.49 1.81
40	4.08 7.21	3.23 5.68	2.84 4.81	2.61 3.83	2.45 3.51	2.34 3.29	2.22 3.12	2.18 2.99	2.12 2.88	2.07 2.80	2.04 2.73	2.00 2.66	1.95 2.56	1.90 2.49	1.84 2.37	1.79 2.29	1.74 2.20	1.69 2.11	1.66 2.04	1.61 1.97	1.58 1.94	1.55 1.88	1.53 1.84	1.51 1.81	1.49 1.80
42	4.07 7.20	3.22 5.65	2.83 4.79	2.59 3.80	2.44 3.49	2.32 3.26	2.24 3.10	2.17 2.96	2.11 2.86	2.06 2.77	2.02 2.70	1.99 2.64	1.94 2.54	1.89 2.46	1.82 2.35	1.78 2.26	1.73 2.17	1.68 2.08	1.64 2.02	1.60 1.94	1.57 1.91	1.54 1.85	1.51 1.81	1.49 1.78	1.47 1.76
44	4.06 7.24	3.21 5.62	2.82 4.76	2.58 3.79	2.43 3.46	2.31 3.24	2.23 3.07	2.16 2.94	2.10 2.84	2.05 2.75	2.01 2.68	1.98 2.62	1.92 2.52	1.88 2.44	1.81 2.32	1.76 2.24	1.72 2.15	1.66 2.06	1.63 1.92	1.58 1.88	1.56 1.88	1.52 1.82	1.48 1.78	1.46 1.73	1.44 1.70
46	4.05 7.21	3.20 5.60	2.81 4.74	2.57 3.76	2.42 3.44	2.30 3.22	2.22 3.05	2.14 2.92	2.09 2.82	2.04 2.73	2.00 2.66	1.97 2.60	1.91 2.50	1.87 2.42	1.80 2.30	1.75 2.22	1.71 2.13	1.65 2.04	1.62 1.90	1.57 1.86	1.54 1.80	1.51 1.76	1.48 1.72	1.46 1.67	1.44 1.64
48	4.04 7.19	3.19 5.58	2.80 4.72	2.56 3.74	2.41 3.42	2.30 3.20	2.21 3.04	2.14 2.90	2.08 2.80	2.03 2.71	1.99 2.64	1.96 2.58	1.90 2.48	1.86 2.40	1.81 2.28	1.76 2.20	1.71 2.11	1.66 2.02	1.61 1.96	1.58 1.88	1.54 1.84	1.51 1.76	1.48 1.70	1.46 1.64	1.44 1.62
50	4.03 7.17	3.18 5.56	2.79 4.70	2.56 3.72	2.40 3.41	2.29 3.18	2.20 3.02	2.13 2.88	2.07 2.78	2.02 2.70	1.98 2.62	1.95 2.56	1.90 2.46	1.85 2.39	1.78 2.26	1.74 2.18	1.69 2.10	1.63 2.00	1.60 1.94	1.55 1.86	1.52 1.82	1.48 1.76	1.46 1.71	1.44 1.68	1.42 1.66
55	4.02 7.12	3.17 5.51	2.78 4.68	2.54 3.68	2.38 3.37	2.27 3.15	2.18 2.98	2.11 2.85	2.05 2.75	2.00 2.64	1.97 2.59	1.93 2.53	1.88 2.43	1.83 2.35	1.76 2.23	1.72 2.15	1.67 2.06	1.61 1.96	1.58 1.88	1.52 1.82	1.50 1.78	1.46 1.74	1.44 1.68	1.42 1.66	1.40 1.64
60	4.00 7.06	3.15 5.48	2.76 4.66	2.52 3.65	2.37 3.34	2.25 3.12	2.17 2.95	2.10 2.82	2.04 2.72	1.99 2.63	1.95 2.56	1.92 2.50	1.86 2.42	1.81 2.30	1.75 2.22	1.70 2.12	1.65 2.04	1.60 1.90	1.56 1.87	1.50 1.79	1.48 1.74	1.44 1.68	1.41 1.66	1.39 1.63	1.37 1.60
65	3.99 7.04	3.14 5.45	2.75 4.64	2.51 3.62	2.36 3.31	2.24 3.09	2.24 2.93	2.15 2.79	2.08 2.70	2.02 2.61	1.98 2.54	1.94 2.47	1.90 2.37	1.85 2.28	1.80 2.18	1.73 2.10	1.68 2.00	1.63 1.89	1.57 1.79	1.54 1.80	1.49 1.76	1.46 1.71	1.42 1.66	1.39 1.64	1.37 1.60
70	3.98 7.01	3.13 5.42	2.74 4.63	2.50 3.60	2.35 3.29	2.23 3.07	2.14 2.91	2.07 2.77	2.01 2.67	1.97 2.59	1.93 2.51	1.89 2.45	1.84 2.35	1.79 2.28	1.72 2.15	1.67 2.07	1.62 1.98	1.56 1.88	1.53 1.80	1.47 1.74	1.44 1.68	1.41 1.66	1.37 1.61	1.35 1.59	1.33 1.57
80	3.96 6.96	3.11 5.38	2.72 4.64	2.48 3.56	2.33 3.25	2.21 3.04	2.12 2.87	2.05 2.74	1.99 2.64	1.95 2.55	1.91 2.48	1.88 2.41	1.83 2.32	1.78 2.24	1.72 2.11	1.65 2.03	1.60 1.94	1.54 1.84	1.51 1.79	1.45 1.70	1.42 1.65	1.38 1.62	1.35 1.58	1.32 1.55	1.30 1.53
100	3.94 6.90	3.09 5.32	2.70 4.62	2.46 3.51	2.30 3.20	2.19 2.99	2.10 2.82	2.03 2.69	1.97 2.59	1.92 2.51	1.88 2.43	1.85 2.36	1.79 2.26	1.75 2.19	1.68 2.06	1.63 1.90	1.57 1.89	1.51 1.81	1.48 1.73	1.42 1.68	1.39 1.64	1.34 1.59	1.30 1.54	1.28 1.52	1.26 1.50
125	3.92 6.84	3.07 5.28	2.68 4.58	2.44 3.54	2.29 3.17	2.17 2.95	2.08 2.79	2.01 2.65	1.95 2.54	1.90 2.47	1.86 2.40	1.83 2.33	1.77 2.23	1.72 2.15	1.65 2.03	1.60 1.94	1.55 1.85	1.49 1.75	1.45 1.68	1.39 1.64	1.36 1.61	1.31 1.56	1.27 1.51	1.25 1.49	1.23 1.47
150	3.91 6.81	3.06 5.25	2.67 4.57	2.43 3.54	2.27 3.14	2.16 2.92	2.07 2.76	2.00 2.62	1.94 2.53	1.89 2.44	1.85 2.37	1.82 2.30	1.76 2.20	1.71 2.12	1.64 2.00	1.59 1.91	1.54 1.83	1.48 1.72	1.44 1.66	1.37 1.60	1.34 1.57	1.29 1.53	1.25 1.49	1.22 1.46	1.20 1.44
200	3.89 6.76	3.04 5.21	2.65 4.55	2.41 3.51	2.26 3.11	2.14 2.90	2.05 2.73	1.98 2.60	1.92 2.50	1.87 2.41	1.83 2.34	1.80 2.28	1.74 2.17	1.69 2.09	1.62 1.97	1.57 1.88	1.52 1.79	1.45 1.69	1.42 1.65	1.35 1.58	1.32 1.55	1.27 1.50	1.22 1.45	1.19 1.42	1.17 1.40
400	3.86 6.70	3.02 5.16	2.62 4.52	2.39 3.46	2.23 3.05	2.12 2.85	2.03 2.69	1.96 2.55	1.90 2.43	1.85 2.37	1.81 2.29	1.78 2.22	1.72 2.12	1.67 2.04	1.60 1.92	1.54 1.84	1.49 1.74	1.42 1.64	1.38 1.57	1.32 1.47	1.28 1.42	1.22 1.42	1.16 1.32	1.13 1.32	1.11 1.31
1000	3.85 6.66	3.00 5.12	2.61 4.50	2.38 3.44	2.22 3.04	2.10 2.82	2.02 2.66	1.95 2.53	1.89 2.43	1.84 2.34	1.80 2.26	1.76 2.20	1.70 2.09	1.65 2.01	1.58 1.89	1.53 1.81	1.47 1.71	1.41 1.61	1.36 1.54	1.30 1.44	1.26 1.38	1.19 1.28	1.13 1.20	1.10 1.19	1.08 1.11
∞	3.84 6.64	2.99 5.10	2.60 4.48	2.37 3.42	2.21 3.02	2.09 2.80	2.01 2.64	1.94 2.51	1.88 2.41	1.83 2.32	1.79 2.29	1.75 2.18	1.69 2.07	1.64 1.99	1.57 1.87	1.52 1.79	1.46 1.69	1.40 1.59	1.35 1.52	1.28 1.41	1.24 1.36	1.17 1.25	1.11 1.18	1.06 1.10	1.00 1.00

APÉNDICE D

TABLA DE TUKEY

LIBERTAD # *meda*

TABLA DE TUKEY

NUMEROS DE TRATAMIENTOS

GRADOS DE LIBERTAD	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	18.00	27.00	31.80	37.40	40.50	43.10	45.40	47.30	49.10	50.50	51.90	53.20	54.36	55.40	56.30	57.20	58.00	58.80	59.60
2	6.99	8.33	9.80	10.99	11.73	12.43	13.03	13.54	13.99	14.39	14.75	15.08	15.38	15.65	15.91	16.14	16.36	16.57	16.77
3	4.50	5.91	6.83	7.51	8.04	8.47	8.85	9.18	9.46	9.72	9.95	10.16	10.35	10.52	10.69	10.84	10.98	11.12	11.24
4	3.93	5.04	5.76	6.29	6.71	7.00	7.35	7.60	7.83	8.03	8.21	8.37	8.52	8.67	8.80	8.92	9.03	9.14	9.24
5	3.64	4.60	5.22	5.67	6.03	6.33	6.58	6.80	6.99	7.17	7.32	7.47	7.60	7.72	7.83	7.93	8.03	8.12	8.21
6	3.46	4.34	4.90	5.31	5.63	5.89	6.12	6.32	6.49	6.65	6.79	6.92	7.04	7.14	7.24	7.34	7.43	7.51	7
7	3.34	4.16	4.68	5.06	5.35	5.59	5.80	5.99	6.15	6.29	6.42	6.54	6.65	6.75	6.84	6.93	7.01	7.08	7.10
8	3.26	4.04	4.53	4.89	5.17	5.40	5.60	5.77	5.92	6.05	6.18	6.29	6.39	6.48	6.57	6.65	6.73	6.80	6.87
9	3.20	3.95	4.42	4.76	5.02	5.24	5.43	5.60	5.74	5.87	5.98	6.09	6.19	6.28	6.36	6.44	6.51	6.58	6.65
10	3.15	3.88	4.33	4.66	4.91	5.12	5.30	5.46	5.60	5.72	5.83	5.93	6.03	6.12	6.20	6.27	6.34	6.41	6.47
11	3.11	3.82	4.26	4.58	4.82	5.03	5.20	5.35	5.49	5.61	5.71	5.81	5.90	5.98	6.06	6.14	6.20	6.27	6.33
12	3.08	3.77	4.20	4.51	4.75	4.95	5.12	5.27	5.40	5.51	5.61	5.71	5.80	5.88	5.95	6.02	6.09	6.15	6.21
13	3.06	3.73	4.15	4.46	4.69	4.88	5.05	5.19	5.32	5.43	5.53	5.63	5.71	5.79	5.86	5.93	6.00	6.06	6.11
14	3.03	3.70	4.11	4.41	4.64	4.83	4.99	5.13	5.25	5.36	5.46	5.56	5.64	5.72	5.79	5.86	5.92	5.98	6.03
15	3.01	3.67	4.08	4.37	4.59	4.78	4.94	5.08	5.20	5.31	5.40	5.49	5.57	5.65	5.72	5.79	5.85	5.91	5.96
16	3.00	3.65	4.05	4.34	4.56	4.74	4.90	5.03	5.15	5.26	5.35	5.44	5.52	5.59	5.66	5.73	5.79	5.84	5.90
17	2.98	3.62	4.02	4.31	4.52	4.70	4.86	4.99	5.11	5.21	5.31	5.39	5.47	5.55	5.61	5.68	5.74	5.79	5.84
18	2.97	3.61	4.00	4.29	4.49	4.67	4.83	4.96	5.07	5.17	5.27	5.35	5.43	5.50	5.57	5.63	5.69	5.74	5.79
19	2.96	3.59	3.98	4.26	4.47	4.64	4.79	4.92	5.04	5.14	5.23	5.32	5.39	5.46	5.53	5.59	5.65	5.70	5.75
20	2.95	3.58	3.96	4.24	4.45	4.62	4.77	4.90	5.01	5.11	5.20	5.28	5.36	5.43	5.50	5.56	5.61	5.66	5.71
24	2.92	3.53	3.90	4.17	4.37	4.54	4.68	4.81	4.92	5.01	5.10	5.18	5.25	5.32	5.38	5.44	5.50	5.55	5.59
30	2.89	3.48	3.84	4.11	4.30	4.46	4.60	4.72	4.83	4.92	5.00	5.08	5.15	5.21	5.27	5.33	5.38	5.43	5.48
40	2.86	3.44	3.79	4.04	4.23	4.39	4.52	4.63	4.74	4.82	4.90	4.98	5.05	5.11	5.17	5.22	5.27	5.32	5.36
60	2.83	3.40	3.74	3.98	4.16	4.31	4.44	4.55	4.65	4.73	4.81	4.88	4.94	5.00	5.06	5.11	5.15	5.20	5.24
120	2.80	3.36	3.69	3.92	4.10	4.24	4.36	4.47	4.56	4.64	4.71	4.78	4.84	4.90	4.95	5.00	5.04	5.09	5.13
	2.77	3.32	3.63	3.86	4.03	4.17	4.29	4.39	4.47	4.55	4.62	4.68	4.74	4.80	4.84	4.89	4.93	4.97	5.01

APÉNDICE E

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE SÓLIDOS TOTALES EN EL PAN

Norma INEN 95 (1979)

Instrumental:

- Estufa provista de regulador de temperatura
- Balanza analítica
- Cápsulas de porcelana
- Mortero

Disposiciones generales:

- La determinación debe realizarse dentro de las 30 horas, después que el pan haya salido del horno

Preparación de la muestra:

- Cortar, de cada uno de los panes, una sección correspondiente a su octava parte, si el pan es redondo o a su cuarta parte, si es alargado.
- Rebanar las secciones cortadas y luego cortar cada rebanada en trozos pequeños y de forma cúbica.

Procedimiento:

- Pesar una cantidad de muestra preparada no menor de 50 g y registrar tal valor como m1.
- Calentar la porción pesada en una estufa a 40°C durante un tiempo no menor de 4h, pero suficiente para que la porción se endurezca y pueda ser desmenuzada.
- Sacar la porción de la estufa y dejar a temperatura ambiente durante 3h; pesar y registrar tal valor como m2.
- Moler en un mortero el material seco, mezclarlo y transferir una cantidad de aproximadamente 5g (que se registra como m3) a una cápsula de porcelana.
- Calentar la cápsula con su contenido en una estufa a 130°C durante una hora, determinar su masa final y registrar tal valor como m4.

Cálculos:

El contenido de sólidos totales se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$S = \frac{m_2 - m_4}{m_1 - m_3} \times 100$$

Siendo:

S = contenido de sólidos totales en porcentaje de masa.

m_1 = masa de la muestra usada en la determinación, en g.

m_2 = masa de la muestra después de la desecación a 40°C,
en g.

m_3 = masa de la porción antes de la desecación a 130°C, en
g.

m_4 = masa de la porción después de la desecación a 130°C,
en g.

El contenido de humedad se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$H = 100 - S$$

Siendo:

H = contenido de humedad en porcentaje de masa.

S = contenido de sólidos totales en porcentaje de masa.

APÉNDICE F

DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Para la determinación de humedad se utilizó la siguiente prueba:

MATERIAL

- Papel o charolitas de aluminio (proporcionado por el alumno)
- 1 espátula
- 2 frascos de vidrio con tapadera (proporcionados por el alumno)
- 1 balanza analítica
- 1 paquete chico de harina de trigo.
- 1 tamíz

PROCEDIMIENTO

1. Prepare una charolita de papel aluminio
2. Pese la charola vacía y anote el peso
3. Tamice la muestra de harina y, en la charola de aluminio, pese 3 - 4 g de la muestra en la balanza analítica. Registre hasta centésimas.
4. Ponga a secar las muestras en el horno a 130°C durante 1 hora
5. Saque la muestra del horno y póngala a enfriar en un desecador durante 10 minutos.
6. Pese las muestras secas si es posible hasta peso constante, regresándolas 10 minutos al horno y enfriando nuevamente.
7. Calcule el contenido de humedad como el peso perdido de la muestra durante el secado según la siguiente fórmula:

$$\frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 = \% \text{ de humedad}$$

En donde:

P_i = Peso inicial

P_f = Peso final

Fuente:

<http://docencia.izt.uam.mx/lyanez/analisis/practicas/humedad%20y%20cenizas.DOC> (2008)

APÉNDICE G

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS FRESCOS-PROCESADOS RECuento DE MICROORGANISMOS DE MESÓFILOS TOTALES

INTRODUCCIÓN

Los alimentos son fácilmente colonizados (contaminados), ya sea de forma natural, en origen o durante el procesamiento y la manipulación. La multiplicación de los microorganismos en el alimento puede implicar desde una alteración inapreciable hasta su deterioro completo y puede ser, en cualquier caso, una vía de transmisión de enfermedades. Por lo tanto, el alimento puede ser vehículo de microorganismos patógenos o de sus toxinas, con riesgo para el consumidor.

Esta práctica estará centrada en algunas bacterias y hongos que pueden ser causa tanto de **toxiinfecciones**, al ser ingeridas por el hombre, como de **alteraciones** durante la conservación del alimento.

Al obtener un elevado conteo de aerobios totales en un alimento se debe considerar no apto para el consumo, ya que, aunque no sean patógenos, este elevado número de microorganismos indica una falla en la manipulación del alimento; también pueden indicar, dentro del almacenamiento mismo, si este no ha tenido las condiciones suficientes de tiempo y temperaturas.

A pesar de que aerobios totales es uno de los métodos más empleados, tiene sus limitaciones:

- No puede emplearse en todo tipo de alimentos (alimentos fermentados) porque el incremento en el número de microorganismos es normal y no será posible diferenciar entre los microorganismos objetables o deseables.
- La población viable de un alimento tratado térmicamente puede ser baja, sin embargo, el examen microscópico revela organismos muertos que demuestran el uso de materia prima de calidad microbiológica pobre.
- De manera similar ocurre con alimentos congelados por largos períodos de tiempo.
- El conteo de aerobios también es de poco significado cuando se mantiene en refrigeración un producto ya que los microorganismos mesófilos no sobreviven a estas temperaturas por más de tres días.

Recuento de microorganismos mesófilos totales

La determinación de este grupo nos da idea de la **calidad** de la materia prima y del proceso de elaboración del producto. Cifras altas en este recuento pueden indicar un proceso de alteración del alimento, aunque no necesariamente hay que relacionarlo con la presencia de gérmenes patógenos.

METODOLOGÍA

Preparación de la muestra:

- Tomar la muestra en condiciones asépticas: Para ello se pueden emplear cubiertos y botes previamente esterilizados. Si transcurre un tiempo entre la toma de muestra y el análisis, se mantendrá la muestra en refrigeración.
- Homogeneización del alimento: Emplearemos un homogenizador comercial de paletas para que la distribución de los microorganismos en el medio sea homogénea. Se pesan 10 g del alimento en una bolsa de plástico estéril y se añaden 90 ml de caldo de peptona estéril. El triturado de la muestra se realiza al menos durante 2 minutos, aunque el tiempo depende de la consistencia del alimento.
- Realizar una serie de diluciones decimales seriados: En tubos con 9 ml de caldo de peptona. En función de la carga microbiana esperada en el alimento se realizan las diluciones que se crean convenientes.

NOTA: Al añadir 90 ml de caldo de peptona a los 10 g de muestra, se está realizando la primera dilución decimal (los 10g de la muestra van a implicar aproximadamente 10 ml de volumen).

Siembra:

1. Añadir con pipetas estériles a partir de tres de las diluciones decimales (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}), 0.1 ml/placa a una serie de tres placas de Petri vacías estériles.
2. Verter en cada placa unos 15-20 ml de medio PCA fundido y temperado a 45-50°C.
3. Incubar durante 24h – 48h a 35°C +. 2. Recuento de placas en las que el número de colonias esté comprendido entre 30 y 300. Cálculo de ufc/gramo.
4. Tinción de Gram de colonias con diferentes morfologías.

RESULTADOS:

Seleccione las cajas que corresponden a una dilución y muestre entre 30 y 300 colonias. Cuente todas las colonias de cada caja. Saque el promedio de los dos puntajes y multiplique por el inverso de la dilución usada. Si la muestra es un sólido y expresa como UFC/g y si es líquido UFC/ml.

$$\text{UFC} : C * D * F$$

UFC: Unidades formadoras de Colonia

C: Número de colonias

D: Inverso de la dilución

F: Factor de siembra

Recuento de los microorganismos:

CASOS ESPECIALES

Ambas cajas deben contarse aún cuando una de ellas tenga menos de 30 colonias o más de 300.

Si dos diluciones decimales consecutivas caen dentro del rango de 30 y 300 colonias. Cuente las colonias para cada dilución de acuerdo a las instrucciones anteriores y reporte el promedio de los valores obtenidos siempre y cuando la cifra más alta no sea dos veces mayor que la más baja. En ese caso se reporta solamente la dilución más baja para el resultado final.

Cuando los contajes no caen en el rango de 30 y 300 colonias el resultado se calcula de acuerdo con las circunstancias que se describen a continuación:

- Si todas las cajas de todas las diluciones muestran más de 300 colonias, dividida cada una de las cajas en secciones radiales (2,4,8) y cuente las colonias en una o más secciones. Multiplique el total en cada caso por el factor adecuado para obtener un número estimado de colonias en toda la caja y proceda de acuerdo con las instrucciones anteriores.
- Cuando hay más de 200 colonias por octavo de sección, multiplique por 8, eso a su vez por el inverso de la dilución y exprese el resultado como el mayor, que el valor obtenido, microorganismos por ml (estimado).
- En el caso de que no existan colonias en las cajas (ninguna de ellas), se reporta el resultado como menor que 0.5 veces el inverso de la dilución más concentrada.

- Cuando se trate de cajas que en todas las diluciones presenten menos de 30 colonias se tomará en cuenta para los cálculos los valores de la dilución más concentrada realizada.

OBSERVACIONES:

- Cuando se dan los valores del recuento estándar en placa o del recuento estándar en placa estimado, deben utilizarse solo dos cifras significativas.
- Las diluciones y siembras han sido bien realizadas cuando en las cajas se presentan colonias que disminuyen gradualmente de acuerdo a la concentración de la dilución.
- Siempre que utilice el método de recuento en placa para decidir si una partida de alimento se acepta o se rechaza, debe tenerse en cuenta únicamente el recuento estándar en placa y nunca el recuento estándar en placa estimado.
- Desde el punto de vista de un microorganismo oficial, el recuento estándar en placa estimado es sólo útil como una aproximación inicial para valorar la calidad bacteriológica de un alimento.
- El resultado obtenido al contar por segunda vez las colonias de una placa determinada debe presentar una diferencia máxima del 5% en el caso de que este recuento lo haya realizado la misma persona, y una diferencia máxima del 10% en el caso de que este recuento lo haya realizado otra u otras personas.

Fuente: Biblioteca Laboratorio de Microbiología de Alimentos.

APÉNDICE H

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS FRESCOS-PROCESADOS DETERMINACIÓN DE INDICADORES DE FALTA DE HIGIENE DETECCIÓN DE COLIFORMES TOTALES, FECALES (Escherichia Coli).

INTRODUCCIÓN:

Los coliformes son bacterias indicadoras de inocuidad alimentaria. Del origen fecal de esta bacteria se concluye que su presencia en un alimento indica que éste ha tenido contacto con heces y por tanto que está contaminado con materia de origen fecal. La supervivencia de estas bacterias en medios no entéricos es limitada por lo que su presencia indica una contaminación reciente. Por estas razones, E. Coli es el microorganismo índice ideal para la detección de contaminaciones recientes.

La identificación del grupo coli-aerogenes se hace mediante la detección de microorganismo capaces de fermentar lactosa a 42° en presencia de un 2% de bilis y de cristal violeta.

En alimentos tratados también conviene comprobar la presencia de coli-aerogenes mediante la producción de gas en verde brillante con 2% de lactosa, aunque esto no indica claramente contaminación fecal debido a los múltiples orígenes de las bacterias de este grupo.

No es recomendable el uso del concepto de coliformes fecales definido por las que crecen en presencia de sales biliares a 40-42° porque el grupo no está definido taxonómicamente y las diferencias experimentales en los procesos de detección son muy críticas.

El método es sencillo: incubación en medio de MacConkey a 44°C en anaerobiosis. Análisis de las colonias positivas para detección de la producción de gas en medio con lactosa y de indol en medio con triptófano, ambas determinaciones a 44°C.

Cuando los números de bacterias del grupo son del orden de 1 cfu/ml ó 1cfu/g de material el método empleado es el descrito. Si el número es inferior se realiza un análisis del número más probable y un enriquecimiento con caldo lactosado con verde brillante analizándose posteriormente los tubos positivos en medio de MacConkey.

Las bacteria de este grupo pueden entrar en un proceso de autoesterilización debida a la producción de ácidos en sus procesos e fermentación, ácidos que terminada por matarlas. Por ello es necesario utilizar medios tamponados.

En muchos casos es necesario hacer un tratamiento de recuperación de los microorganismo dañados en los proceso de preparación del alimento.

E. coli es un buen índice mientras que los coliformes en general sólo son buenos índices si los números son inaceptablemente altos.

Esto es debido a que el origen de E. Coli es únicamente intestinal, mientras que los coliformes pueden tener muchos otros orígenes.

Es de interés su investigación en alimentos por se indicador de contaminación fecal, que implica una mala manipulación del producto.

Características estructurales y fisiológicas:

- Bacilos Gram negativos
- Citocromo C oxidasa negativa
- Fermentadores de la glucosa
- Fermentadores de la lactosa
- Productores de indol a 44°C
- Reductores de nitratos a nitritos

MATERIAL:

- Muestra
- Frascos estériles
- Balanza de precisión
- Pipetas estériles de 5 y 10 ml
- Tubos con caldo LSB (caldo lauril sulfato) con campana
- Tubos con caldo brila con campana
- Tubos con caldo de triptona
- Reactivo de kovacs

METODOLOGÍA:

Preparación de la muestra:

Tomar la muestra en condiciones asépticas: Para ello se pueden emplear cubiertos y botes previamente esterilizados. Si transcurre un tiempo entre la toma de muestra y el análisis, se mantendrá la muestra en refrigeración.

Homogeneización del alimento: Emplearemos un homogenizador comercial de paleta para que la distribución de los microorganismos en el medio sea homogénea. Se pesan 10g del alimento en una bolsa de plástico estéril (especial para el homogeneizador) y se añaden 90 ml de caldo de peptona estéril. El triturado de la muestra se realiza al menos durante 2 minutos, aunque el tiempo depende de la consistencia del alimento.

Realizar una serie de diluciones decimales seriados: En tubos con 9 ml de caldo de peptona. En función de la carga microbiana esperada en el alimento se realizan las diluciones que se crean convenientes.

NOTA: Al añadir 90 ml de caldo de peptona a los 10 g de la muestra, se está realizando la primera dilución decimal (los 10g de la muestra van a implicar aproximadamente 10 ml de volumen).

Siembra:

1. Añadir con pipetas estériles, a partir de tres de las diluciones decimales (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}), 1 ml/tubo a tubos con caldo LSB por triplicado.
2. Incubar los tubos 24-48 horas a 37°C.
3. Considerar positivos los tubos que presenten al menos un 10% de gas en la campana.
4. Confirmar los tubos positivos LST mediante pase de 0.1 ml (asa de inoculación calibrada) a tubos con caldo Brilla por triplicado. Incubar los tubos a 44°C durante 24-48 horas.
5. Considerar positivos los tubos que presenten al menos un 10% de gas en la campana.
6. Confirmar los tubos positivos de Brilla mediante pase de 0.1 ml (asa de inoculación calibrada) a tubos con caldo de triptona, para realizar la prueba del indol. Incubar los tubos a 44°C durante 24-48 horas.
7. Añadir reactivo de Kovacs para revelar la presencia de indol.

Prueba de indol:

Esta prueba se emplea para detectar la presencia de la enzima triptofana en las bacterias y nos permite distinguir E. Coli (indol +) de los otros coliformes (indol -). Esta enzima degrada el aminoácido triptofano a: ácido pirúvico, amoníaco e indol que es el compuesto que se detecta en este ensayo.

Procedimiento: Inocular un tubo de caldo de triptona + Na Cl al 0.5% (este digerido de proteínas animales es especialmente rico en triptófano). Incubar a 44°C durante 24 horas. Añadir el reactivo de Kovacs: si se produce un anillo de color rojo en la superficie del caldo, la prueba será considerada positiva.

INTERPRETACIÓN Y RESULTADOS:

Para cada caso se cuantifica el total de tubos positivos y se lee el resultado en la tabla de Numero Más Probable (NMP).

TECNICA DE TUBOS MULTIPLES DE FERMENTACION



APÉNDICE I

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS FRESCOS- PROCESADOS RECuento DE MOHOS Y LEVADURAS

INTRODUCCIÓN

Este recuento es importante en aquellos alimentos de actividad de agua baja y los alimentos ácidos ya que en ellos se da el crecimiento de levaduras y mohos. Los mohos y levaduras resisten pH bajos y actividades de agua menores que las bacterias.

En aquellos alimentos de actividad de agua elevada que tiene pH elevado no son afectados por levaduras y mohos a diferencia de aquellos de bajo contenido de agua y pH bajo, predominarán las bacterias a los mohos y levaduras.

Las levaduras crecen a una actividad de agua de 0.87-0.80 aun ahora se discute sobre el perjuicio a la salud de un alimento con mohos, ya que se han descubierto que los mohos tienen la capacidad de producir micotoxinas pudiendo estar aun en el interior del alimento.

De la gran cantidad de micotoxinas descubiertas, muchas de ellas son factores que predisponen al cáncer y a tumores. Entre todas las toxinas, la **aflatoxina** producida por el *Aspergillus flavus* se ha descubierto con certeza que es un factor precancerígeno.

Las levaduras son inocuas, sin embargo ellas varían las características del alimento mucho más que los mohos, alterando el sabor, color y aroma del alimento. El agar patata dextrosa (PDA) promueve el crecimiento de levaduras y mohos pero no implica que no favorezca el crecimiento de bacterias por lo que se usa un inhibidor bacteriano (ácido tartárico al 10%), pero existen además otros inhibidores que se usan con otros medios como son los antibióticos.

Algunos hongos intervienen en fermentaciones beneficiosas como la fabricación del pan, vino, cerveza y quesos. También pueden intervenir en alteraciones de zumos y frutas, almíbares, jaleas, carnes, vino, cerveza y otros alimentos. Su identificación se basa en criterios morfológicos y fisiológicos teniendo en cuenta que la identificación definitiva se hace en base a pruebas bioquímicas.

Recuento de mohos y levaduras

Se investiga la presencia de mohos y levaduras por ser potencialmente productores de micotoxinas y porque pueden llevar a cabo procesos de alteración del alimento. En esta práctica se aísla en medio PDA (patata dextrosa agar), al que se le incorpora solución de ácido tartárico al 10% el cual inhibe de forma eficaz el crecimiento bacteriano.

MATERIAL

- Muestra
- Balanza de precisión
- Pipetas graduada de 5 y 10 ml
- PDA fundido estéril para recuento en placa
- Placas petri estériles vacías
- Solución estéril de ácido Tartárico al 10%

METODOLOGÍA

Preparación de la muestra

- Tomar la muestra en condiciones asépticas: Para ello se pueden emplear cubiertos y botes previamente esterilizados. Si transcurre un tiempo entre la toma de muestra y el análisis, se mantendrá la muestra en refrigeración.
- Homogeneización del alimento: Emplearemos un homogeneizador comercial de paletas para que la distribución de los microorganismos en el medio sea homogénea. Se pesan 10g del alimento en una bolsa de plástico estéril (especial para el homogeneizador) y se añaden 90 ml de caldo de peptona estéril. El triturado de la muestra se realiza al menos durante 2 minutos aunque el tiempo depende de la consistencia del alimento.
- Realizar una serie de diluciones decimales seriados: En tubos con 9 ml de caldo de peptona. En función de la carga microbiana esperada en el alimento se realizan las diluciones que se crean convenientes.

NOTA: Al añadir 90 ml de caldo de peptona a los 10 g de muestra, se está realizando la primera dilución decimal (los 10 g de la muestra van a implicar aproximadamente 10 ml de volumen).

Siembra:

1. Añadir con pipetas estériles, a partir de tres de las diluciones decimales (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}), 0.1 ml/placa a una serie de tres placas de Petri vacías estériles.
2. Verter en cada placa unos 15-20 ml de medio PDA fundido y temperado a 45°C.
3. Incubar durante 5 días a 25°C. Recuento de placas en las que el número de colonias esté comprendido entre 30 y 300. Cálculo de ufc/gramo.
4. Observación microscópica de colonias con diferentes morfologías.

RESULTADOS

$$\text{UFC} : C * D * F$$

UFC: Unidades formadoras de Colonia

C: Número de colonias

D: Inverso de la dilución

F: Factor de siembra

NOTA: El recuento de microorganismos se procede como se indicó en el caso anterior. (aerobios). Si la muestra es un sólido se expresa como ufc/g y si es un líquido ufc/ml. Identificar macroscópicamente y microscópicamente (método montaje húmedo) colonias de hongos y comparar morfología con base de datos e imágenes.

APÉNDICE J

LÍMITES PERMITIDOS POR LAS NORMAS NTE-INEN EN EL CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS

	n	m	M	C	Método de ensayo
<i>Coliformes totales NMP/g</i>	3	< 3	-	0	NTE.INEN 1529-6
<i>Coliformes fecales NMP/g</i>	3	< 3	-	0	NTE.INEN 1529-8
<i>Aerobios ufc/g</i>	3	100	1000	1	NTE.INEN 1529-5
<i>Recuento de mohos y levaduras UP/g</i>	3	50	-	0	NTE.INEN 1529-10

DONDE:

n = # muestras

m = Índice máximo permitido para identificar el nivel de buena calidad

M = Índice máximo permitido para identificar el nivel de calidad aceptable

c = # de muestras entre m y M

UP = Unidades propagadoras

NORMAS:

- **NTE-INEN 1529-6:9:** CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS COLIFORMES POR LA TÉCNICA DEL NÚMERO MÁS PROBABLE.
- **NTE-INEN 1529-8:29:** CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES Y E.COLI.
- **NTE-INEN 1529-5:06:** CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMO AEROBIOS MESÓFILOS.REP.

- **NTE-INEN 1529-10:98:** CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. MOHOS Y LEVADURAS VIABLES RECUENTO EN PLACA POR SIEMBRA EN PROFUNDIDAD.