



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUATITLÁN

DESARROLLO DE UN PRODUCTO DE PANIFICACIÓN  
ACIDIFICADO CON BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS

TÉSIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTAN:

MARIANA TÉLLEZ LAGUNA  
ALMA KARINA ARENAS HERRERA

ASESOR:

DRA. CLARA INÉS ÁLVAREZ MANRIQUE



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U. N. A. M.  
**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**  
SUPERIORES CUAUTITLÁN

**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO  
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**



**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ  
Jefa del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán**

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **TESIS**  
**Desarrollo de un producto de panificación acidificado con bacterias ácido lácticas**

---



---



---



---

Que presenta la pasante: **Mariana Téllez Laguna**  
Con número de cuenta: **40503294-5** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

**ATENTAMENTE**  
**“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”**  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 03 de Mayo de 2012.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. Clara Inés Álvarez Manrique	
<b>VOCAL</b>	IBQ. Leticia Figueroa Villarreal	
<b>SECRETARIO</b>	IA. Laura Margarita Cortazar Figueroa	
<b>1er SUPLENTE</b>	Dra. Elsa Gutiérrez Cortez	
<b>2do SUPLENTE</b>	IA. Frida Rosalía Cornejo García	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).  
HHA/pm



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U.N.A.M.  
**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**  
ESTADOS UNIDOS MEXICANOS

**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO  
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**



**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ  
Jefa del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán**

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **TESIS**  
**Desarrollo de un producto de panificación acidificado con bacterias ácido lácticas**

---



---



---

Que presenta la pasante: **Alama Karina Arenas Herrera**  
Con número de cuenta: **40504272-8** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**  
**“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”**  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 03 de Mayo de 2012.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. Clara Inés Álvarez Manrique	
<b>VOCAL</b>	IBQ. Leticia Figueroa Villarreal	
<b>SECRETARIO</b>	IA. Laura Margarita Cortazar Figueroa	
<b>1er SUPLENTE</b>	Dra. Elsa Gutiérrez Cortez	
<b>2do SUPLENTE</b>	IA. Frida Rosalía Cornejo García	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).  
HHA/pm

**A MIS PAPÁS**, no tendré vida suficiente para agradecerles todo lo que hacen por mí.

Con este trabajo se culmina una etapa de nuestras vidas, y quiero dedicárselo a su esfuerzo. Porque para que yo llegara a este punto, ustedes tuvieron que hacer grandes sacrificios, que sobrellevaron gracias al amor, valentía y convicción que tenían con la meta de que mi hermano y yo tuviéramos las herramientas necesarias para enfrentarnos a la vida.

Me siento muy feliz de poder demostrarles que su esfuerzo no fue en vano, y mejor aún, que el tiempo que es tan sabio, hoy me pone en una situación donde puedo valorar más su dedicación hacia mí bienestar.

El amor de los padres por los hijos es infinito.

Ahora la responsabilidad que tengo con mi hija es grande, pero son los mejores ejemplos y afortunadamente, cuento con su apoyo incondicional.

**A BENJA**, cada día me convengo más de que el camino a andar esta ya trazado y con paciencia el tiempo te lleva a tu destino, pocas personas tienen la dicha que tenemos nosotros, puede que encontrar el amor sea fácil, lo complicado es hacerlo en alguien que esté dispuesto a pelear las batallas de la vida a tu lado. A veces se necesita que alguien cercano a ti te rete para alcanzar tus metas, gracias por jugar ese papel nada sencillo, todo sea por seguir creciendo juntos, en familia. Te amo.

**A ANA PAU**, hijita ahora eres muy pequeña y no vas a tener memoria de esto, pero gracias por ser mi más grande motivación.

**A MI HERMANITO**, muchas gracias, como siempre nos enseñaron, los éxitos de uno son los éxitos de todos, porque no podríamos llegar sin el apoyo de unos a otros.

**A MI ABUE**, doy gracias a Dios por tenerte y que seas testigo de mis logros.

Muchas gracias por los conocimientos compartidos y la paciencia que mostro para nosotras **DRA. CLARITA**, por fin hicimos justicia a la ardua labor del trabajo experimental.

Con amor Mariana

Agradezco **A MI MADRE** infinitamente llegar a la cúspide de mi carrera; ya que ella fue padre y madre a la vez, con su apoyo fuerte en todos los aspectos desde el inicio de mi trayectoria escolar ha forjado en mí el carácter de la superación y el logro de las metas a no quedarme estancada y al decirme que sin un título en la mano es como si no hubiese estudiado nada.

**A MI PADRE** que aunque no compartí con él los momentos de la carrera universitaria, impulsó en mí los años anteriores a ser una persona de bien y con deseos de triunfar en la vida.

**A MIS HERMANAS GABY Y ROSITA** que con el ejemplo y el apoyo en aquellas noches de desvelo, no hicieron más que darme las ganas de concluir y cerrar ciclos.

**A la DRA. CLARA INÉS ÁLVAREZ** que con sus conocimientos, apoyo, seguimiento e impulso pudimos concluir la realización y término de este trabajo.

**A La Máxima Casa de Estudios “UNAM”** por abrirme las puertas del conocimiento, hacer de mí una persona con ganas de triunfar, con hambre de seguir aprendiendo, que el conocimiento no solo sea adquirido; también sea utilizado, mejorado y enseñado; y que al finalizar con todo esto tengo dos nacionalidades: Soy Mexicana y Soy Universitaria...

Karina

**Desarrollo de un producto de  
panificación acidificado con  
bacterias ácido lácticas**

## ÍNDICE:

	Páginas:
Introducción	7
1. Antecedentes	8
1.1 Historia de la panificación	9
1.2 Generalidades del producto de panificación	9
1.2.1 Definición de producto de panificación	9
1.2.2 Formulación y Composición química	10
1.2.3 Harina	11
1.2.4 Agua	13
1.2.5 Sal	14
1.2.6 Levadura	14
1.2.7 Azúcares	15
1.3 Bacterias Ácido Lácticas	18
1.4 Fermentación	20
1.4.1 Fases de la fermentación	20
1.4.2 Aspectos Químicos de la fermentación	20
1.4.3 Fermentación Láctica	21
1.4.4 Proceso de fermentación ácido láctica	22
1.5 Creación y desarrollo de nuevos productos	23
1.5.1 Proceso de desarrollo de nuevos productos	23
1.5.2 Planeación y decisiones del producto	23
1.5.3 Marca	24
1.5.4 Empaque	25
1.5.5 Etiqueta	25
	27



2. Metodología	
2.1 Objetivo General	28
2.2 Objetivo Particular 1	28
2.2.1 Estudio del mercado. Encuestas	28
2.3 Objetivo Particular 2	28
2.3.1 Establecimiento la formulación base.	28
2.3.2 Elaboración de panes con distintas cepas de Bacterias Ácido Lácticas	28
2.3.3 Selección el medio de crecimiento.	29
2.3.3.1 Crecimiento en el medio seleccionado.	29
2.3.4 Selección la bacteria Ácido Láctica respecto a la velocidad de crecimiento.	30
2.3.4.1 Determinación de acidez y pH durante la curva de crecimiento.	30
2.3.5 Establecimiento la formulación final modificando las concentraciones de bacteria Ácido Láctica seleccionada.	30
2.3.5.1 Determinación la propiedad de dureza en las formulaciones comparando contra un control sin BAL.	30
2.4 Objetivo Particular 3	31
2.5 Descripción del Proceso. Diagrama de Bloques	31
Capítulo 3. Resultados y Análisis	33
3.1 Objetivo Particular 1	34
3.2 Objetivo Particular 2	41
3.3 Objetivo Particular 3	53
4. Conclusiones	57
Bibliografía	60
Apéndice	63

## ÍNDICE DE TABLAS:

	Páginas:
Tabla 1. Composición química del producto de panificación	10
Tabla 2. Formulación del producto de panificación	11
Tabla 3. Composición química de harina de trigo para panificación	11
Tabla 4. Parámetros microbiológicos permitidos para la harina	12
Tabla 5. Límites permisibles de características físicas y organolépticas del agua	13
Tabla 6. Variedades de pan de acuerdo al proceso tradicional e industria.	17
Tabla 7. Comparación de formulación inicial y formulación modificada para el producto de panificación.	41
Tabla 8. Resultados de crecimiento de Lactobacilo en Medio Leche-Sacarosa y Rogosa-Sacarosa.	46
Tabla 9. Resultados curva de crecimiento en UFC/mL	48
Tabla 10. Acidez y pH de las cepas 6M y 382	48
Tabla 11. Resultados de la prueba de dureza.	53
Tabla 12. Información Nutricional del Producto de Panificación saborizado con BAL.	55

## ÍNDICE DE FIGURAS:

	Páginas:
Figura 1. Mecanismo de la lactosa en bacterias lácticas homofermentativas	19
Figura 2. Mecanismo de la lactosa en bacterias lácticas heterofermentativas	19
Figura 3. Descripción del proceso. Diagrama de bloques del producto de panificación	32
Figura 4. Gráfico de resultados de consumo de productos de panificación.	34
Figura 5. Gráfico de Resultados de frecuencia de consumo de productos de panificación.	35
Figura 6. Gráfico de Resultados del tipo de panes de consumo o compra.	36
Figura 7. Gráfico de Resultados de lugar de compra.	36
Figura 8. Gráfico de Resultados de consumo de pan gourmet.	37
Figura 9. Gráfico de Resultados de razones de consumo o compra del pan gourmet.	38
Figura 10. Gráfico de Resultados de compras de pan gourmet.	39
Figura 11. Gráfico de Resultados de consumo de pan adicionado con Lactobacilos.	39
Figura 12. Gráfico de Resultados de competencia de pan gourmet.	40
Figura 13. Gráfico que representa las diferencias significativas entre las cepas evaluadas.	42
Figura 14. Escala de agrado para las formulaciones con diferentes cepas de BAL.	43
Figura 15. Grafico que muestra los resultados de aceptación de las formulaciones de pan con medio Rogosa-Sacarosa y Leche-Sacarosa manteniendo constante la cepa de Lactobacilo.	44

Figura 16. Resultados prueba de preferencia para los medios de crecimiento Leche- Sacarosa y Rogosa-Sacarosa.	45
Figura 17. Curva de crecimiento promedio vs. Tiempo para la cepa 6M y 382	47
Figura 18. Curva de % de Acidez vs. Tiempo para las cepas 6My 382.	49
Figura 19. Curva de pH vs. Tiempo para la cepa 6M y 382	50
Figura 20. Escala de Agrado de las formulaciones con variación en la concentración de BAL.	51
Figura 21. Gráfico de preferencia de las formulaciones con variación en la concentración de BAL.	52
Figura 22. Simulación de plano mecánico de empaque y caja armada.	56

## INTRODUCCIÓN

Los panes acidificados son productos elaborados mediante la fermentación microbiana ácido láctica y alcohólica, con propiedades sensoriales y fisicoquímicas diferentes a las de los panes no acidificados (León et al., 2006), su desarrollo y comercialización constituyen una alternativa para el consumidor, puesto que en el mercado la mayoría de los productos de panificación están orientados a tener un sabor dulce; la elaboración de un pan acidificado brinda a la industria la opción de un producto más a su gama de variedades.

En la industria panadera existen panes ácidos como el pan de centeno, el cual se logra con el uso de las masas reprocessadas. Los *Lactobacilos* brindan otro procedimiento de acidificación más viable y efectivo, ya que siempre se podrá contar con un producto de características más constantes y se tendrá mayor control durante su proceso (Meignen et.al, 2001).

Las Bacterias ácido lácticas (BAL) desdoblan carbohidratos y producen ácido láctico y otros metabolitos descendiendo el pH hasta 4.7 (Axelsson, 2004). Son clasificadas como homo o heterofermentativas (Madigan et al., 2004). Las masas ácidas se fabrican con harina y leche, mezclas heterogéneas de BAL y levaduras, éstas se acidifican hasta un pH de 5 (Calaveras, 1996). Durante este proceso, las BAL realizan proteólisis, hidrólisis moderada del almidón y acidificación (Mozzi et al., 2008). El deterioro en la calidad sensorial del pan se asocia con la pérdida del sabor, de la crujencia en la corteza, el aumento en el desmoronamiento de la miga y de su firmeza y su incremento rápido es causa de pérdidas en la industria panificadora mundial, las cuales se han calculado entre un 8-10% de la producción total (Best, 2001). El ácido láctico y otros productos metabólicos de las BAL contribuyen a las propiedades organolépticas y el perfil textural de un alimento específico (Stampfli y Nersten, 1995).

Por ello en este trabajo se plantea la metodología para desarrollar un producto de panificación acidificado por fermentación con la finalidad de desarrollar un nuevo perfil sensorial que genere más variedad a esa categoría de productos. Las bacterias ácido lácticas utilizadas en la formulación del producto mejoraran la textura (Barber et al., 1983) y aportarán un sabor característico (Salim-ur-Rehman et al., 2006), además de que los tiempos de fermentación pueden optimizarse con respecto al proceso convencional. De acuerdo a esto, esta variedad de producto puede ser posicionada en el mercado de pan gourmet; donde el tipo de consumidor al que se dirigirá será aquel con paladar exigente perteneciendo al sector económico medio alto.

# 1. Antecedentes

## 1. ANTECEDENTES

### **1.1 Historia de la panificación**

El pan constituye la base de la alimentación desde hace 700 u 800 años (Bourgeois, 1995). Al principio era una pasta plana, no fermentada, elaborada con una masa de granos machacados groseramente y cocida, muy probablemente sobre piedras planas calientes.

Fue en Egipto donde apareció el primer pan fermentado cuando se observó que la masa elaborada el día anterior producía burbujas de aire y aumentaba su volumen, y que, añadida a la masa de harina nueva daba un pan más ligero y de mejor gusto. Existen bajorrelieves egipcios (3000 años A.C.) sobre la fabricación de pan y cerveza, que sugieren que fue en la civilización egipcia donde se utilizaron por primera vez los métodos bioquímicos de elaboración de estos alimentos fermentados (Aleixandre, 1996).

Los galios, después de Plinio, utilizaron la espuma de la cerveza para elaborar pan. Esta técnica fue olvidada y redescubierta en el siglo XVII convirtiéndose en práctica habitual en Europa hasta 1800 (Fellows, 1993; Bourgeois, 1995). En el siglo XIX las levaduras de las cervecerías fueron reemplazadas por las procedentes de las destilerías de alcohol de cereales. A finales del siglo XIX. A raíz de los trabajos de Pasteur, se desarrolló una industria específica para la producción de levaduras que culmina en 1920 con un moderno método de producción de levaduras de panadería (*Saccharomyces cerevisiae*), inventado por el danés Soren Sak y denominado “Método Zero” ya que evita la producción de etanol (Bourgeois, 1995).

Durante los siglos XIX y XX los oficios familiares dan paso a la construcción de fábricas que incrementan la capacidad de producción de alimentos básicos, entre ellos el pan y los productos de panadería, llegándose hasta nuestros días a dos tendencias hasta cierto punto contrapuestas. Por un lado, los cambios de estilo de vida y la difusión de los congeladores y los microondas conllevan a la demanda de los alimentos (entre ellos el pan) de más cómoda preparación y adecuados para su almacenamiento en congeladores. Por otro lado, existe también una cierta demanda de alimentos lo más parecidos posible al alimento tradicional (Aleixandre, 1999). Estas dos tendencias han tenido una repercusión importante en la panificación moderna.

### **1.2 Generalidades del producto de panificación**

#### **1.2.1 Definición de producto de panificación**

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-147-SSA1-1996, Bienes y Servicios. Cereales y sus Productos. Harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de cereales, de semillas comestibles, harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales, se define como:

- **Productos de panificación**, a los obtenidos de las mezclas de harinas de cereales o harinas integrales o leguminosas, agua potable, fermentados o no, pueden contener: sal comestible, mantequilla, margarina, aceites comestibles hidrogenados o no, leudante, polvo de hornear, especias y otros ingredientes opcionales tales como, azúcares, mieles, frutas, jugos u otros productos comestibles similares, pueden emplear o no aditivos para alimentos; sometidos a proceso de horneado, cocción o fritura; con o sin relleno o con cobertura, pueden ser mantenidos a temperatura ambiente, en refrigeración o en congelación según el caso.
- **Productos de panadería industrial**, a los obtenidos por procesos continuos de fabricación, estandarizados, con alto grado de automatización y en lotes de mayor escala. Pueden utilizar aditivos para alimentos y comercializarse tanto a granel como preenvasados.
- **Productos de panadería tradicional**, a los obtenidos por un proceso artesanal, básicamente manual, de formas variadas y nombres de uso común con una vida útil corta. Utilizan ocasionalmente aditivos para alimentos de acuerdo al producto y se venden a granel o preenvasados.

Si bien la panificación es un oficio milenario donde se formulaba de manera empírica, hoy en día conocemos que cada uno de los ingredientes de los productos de panificación desarrolla una función tecnológica en el proceso, lo que permite características específicas en el producto final, teniendo así diferentes tipos y variedades de panes para satisfacer a todos los mercados. En la industria panadera, los ingredientes trabajan en conjunto para desarrollar la calidad en la estructura y textura deseada en los productos de panificación. Cada componente afecta a los otros, y si se adicionan en cantidades inadecuadas puede esto repercutir de manera negativa en la calidad final del producto (Mohd, 2008).

### 1.2.2 Formulación y Composición química

En la Tabla 1 se puede observar la composición del producto de panificación respecto a nutrimentos y cantidad de agua presentes en él.

**Tabla 1: Composición química del producto de panificación.**

<b>Composición química:</b>	<b>%</b>
Hidratos de Carbono.	47.8
Proteínas.	7.6
Grasas.	1.2
Fibra.	3.5
Humedad.	38.3

Fuente: (Souci, 2006).

Los carbohidratos son el nutrimento en mayor porcentaje, el más representativo presente en el pan es el almidón.



En la Tabla 2 se presenta los ingredientes primarios con los que se elabora un producto de panificación.

**Tabla 2: Formulación del producto de panificación**

<b>Ingredientes:</b>	<b>Cantidad</b>	<b>%</b>
Harina de trigo.	100 g	61.34
Agua.	57.2 ml	35.09
Sal	1.8 g	1.1
<i>S. cerevisiae</i> (Levadura)	4 g	2.45

Fuente: (León et al., 2006).

Se observa que el ingrediente mayoritario es la harina, los demás ingredientes tienen una funcionalidad específica para lograr el resultado adecuado del producto. A continuación se describen puntualmente los antes mencionados.

### 1.2.3 Harina

La harina que deberá entenderse como la obtenida de la molienda del trigo del grano maduro, entero, quebrado, sano y seco del género *Triticum*, L; de las especies *T. vulgare*, *T. compactum* y *T. durum* o mezclas de éstas, en el que se elimina gran parte del salvado y germen y el resto se tritura hasta obtener un grano de finura adecuada (NOM-147-SSA1-1996), es la materia prima en mayor proporción en la elaboración de productos de panificación, la importancia parte de sus componentes: carbohidratos y proteínas, almidón y gluten respectivamente.

La composición química general de harina de trigo para panificación se encuentra en la Tabla 3.

**Tabla 3: Composición química de harina de trigo para panificación.**

<b>Composición química:</b>	<b>%</b>
Hidratos de Carbono.	69.1
Proteínas.	10.6
Grasas.	1.5
Fibra.	4.1
Agua	14.2

Fuente: (Souci, 2006).

Nótese que el mayor % corresponde a los Hidratos de Carbono. El almidón presente en la harina es un carbohidrato formado por amilosa y amilopectina es uno de los principales componentes de la harina que contribuye en el poder de absorción de agua, en el producto final el almidón proporciona volumen, estructura y dureza en la miga. Por otro lado el gluten formado por dos péptidos, gliadina y glutenina, al hidratarse forma una red proteica encargada de aguantar el gas carbónico producido por las levaduras. La cantidad de gluten en la harina permite clasificar las harinas de la siguiente manera:

- Harinas menores al 8 % de proteína. Son harinas de tendencia forrajera no aptas para panificación
- Harinas con 8%. Son harinas panificables pero con procedencia de trigo flojo.
- Harinas con 9%. Son harinas de media fuerza.
- Harinas mayores a 11%. Son harinas de gran fuerza utilizadas en repostería y bollería (Calaveras, 2004).

Esencialmente la harina es una mezcla de almidón, agua, azúcares, sales y un hidrogel desecado, el gluten. Sus propiedades dependen de la capacidad de inhibición del hidrogel, esto es, de su capacidad de absorción de agua (Calaveras, 2004).

Por tanto, las condiciones generales para tener una harina normal son:

- Estar en perfectas condiciones (olor, sabor, color...)
- Proceder de materias primas no alteradas, adulteradas o contaminadas.
- Estar exenta de gérmenes patógenos, toxinas o microorganismos alterantes.

Las harinas destinadas a la fabricación de distintos tipos de pan, bollería y pastelería se encuentran fabricadas en una granulometría que va de 96 a 180 micras y deben ser duras o semiduras y elásticas.

En la Tabla 4 se mencionan los límites microbiológicos que debe cumplir la harina para poder utilizarse en la elaboración de un producto de panificación.

**Tabla 4. Parámetros microbiológicos permitidos para la harina.**

	<b>Mesofílicos aerobios UFC/g</b>	<b>Coliformes totales UFC/g</b>	<b>Mohos  UFC/g</b>
Harina de trigo, sémolas o semolinas	50,000	150	300

Fuente: (NOM-147-SSA1-1996).

El cumplimiento de estos parámetros es de carácter obligatorio de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana, estos se establecen para evitar riesgos de seguridad alimentaria.

### 1.2.4 Agua

Otro ingrediente fundamental en la elaboración del pan es el agua, ya que permite la hidratación de la harina y en consecuencia la formación de la red proteica, además de tener una función nutritiva para la levadura. El agua es una sustancia cuya molécula está formada por dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno, tiene un alto poder disolvente en relación con las sales, y esto se debe a que según la composición química de los estratos del terreno por los que pasa, ésta se enriquece de diversas sustancias y da lugar a una composición química diversa. El agua y la harina son los ingredientes más significativos, ya que afectan la textura y crujencia en mayor proporción (Mondal, 2008).

El agua potable, abastecida por el sistema de distribución, no debe contener E. coli o coliformes fecales u organismos termotolerantes en ninguna muestra de 100 mL. Los organismos coliformes totales no deben ser detectables en ninguna muestra de 100 mL, en sistemas de abastecimiento de localidades con una población mayor de 50 000 habitantes; estos organismos deberán estar ausentes en el 95% de las muestras tomadas en un mismo sitio de la red de distribución, durante un periodo de doce meses de un mismo año (NOM-127-SSA1-1994).

Para ser declarada potable no debe tener sabores anormales o desagradables, ni ningún olor, en la Tabla 5 se muestran las características que debe cumplir el agua para considerarse potable de acuerdo a la normatividad mexicana vigente.

Otro índice analítico del agua que tiene importancia por su influencia en la tecnología de la panificación es el pH, ya que para un desarrollo óptimo de la masa, su valor debe estar comprendido entre 5 y 6.

**Tabla 5. Límites permisibles de características físicas, químicas y organolépticas del agua.**

CARACTERÍSTICA	LÍMITE PERMISIBLE
Color	20 unidades de color verdadero en la escala de platino-cobalto.
Olor y sabor	Agradable (se aceptarán aquellos que sean tolerables para la mayoría de los consumidores, siempre que no sean resultado de condiciones objetables desde el punto de vista biológico o químico).
Turbiedad	5 unidades de turbiedad nefelométricas (UTN) o su equivalente en otro método.
pH	6.5 - 8.5

Fuente: (NOM-127-SSA1-1994).

El empleo de agua alcalina, con un pH superior a 7 confiere a la masa un pH mayor de 6, con lo que se obtiene una escasa producción de gas y un prolongamiento del tiempo de maduración, a causa de una reducida actividad de las levaduras, de las diastasas y de las bacterias lácticas. Un agua alcalina tiene efectos negativos sobre la formación del gluten, afectando la elasticidad de la masa: por lo tanto es necesario un agua ligeramente ácida.

En definitiva, las características del agua tienen una notable influencia en el desarrollo de las diversas fases del proceso de panificación y sobre la calidad del producto final, por lo que es necesario emplear un agua apropiada.

En el caso de no poder disponer de un agua apta para la panificación, es necesario prever los tratamientos oportunos, que no modificando las características u operaciones particulares de la masa, anulan los efectos negativos.

Los tratamientos correctivos del agua se pueden clasificar en tres partes:

- Modificación del pH
- Corrección de la dureza
- Reducción de la carga bacteriana (Quaglia,1991)

### **1.2.5 Sal**

Un elemento indispensable para la masa del pan, su objetivo principal es dar sabor al pan. Además es importante porque hace la masa más tenaz, actúa como regulador de la fermentación, favorece la coloración de la corteza durante la cocción y aumenta la capacidad de retención de agua (Calvel, 1994).

La sal actúa principalmente sobre la formación del gluten, ya que la gliadina, uno de sus dos componentes, tiene menor solubilidad en el agua con sal, lo que da lugar a la formación de una mayor cantidad de gluten (Quaglia, 1991).

Por otra parte, el gluten formado tiene fibras cortas, como consecuencia de las fuerzas de atracción electrostáticas que ocurren en la malla formada con la sal, se presenta rígido, confiriendo a la masa mayor compacticidad con respecto al gluten obtenido sin sal, haciendo a las masas más fáciles de trabajar, también es posible una mejor hidratación de estas, sin que se vuelvan pegajosas (Quaglia, 1991).

### **1.2.6 Levadura**

Se entiende por levaduras a un grupo particular de hongos unicelulares caracterizados por su capacidad de transformar los azúcares mediante fermentación. Las levaduras permiten el aumento de volumen de la masa por la formación de gases, proporcionando esa característica de esponjosidad propia del pan.

Los factores químicos que influyen en la actividad de las levaduras son el pH, los nutrientes disponibles y la presencia de sustancias capaces de bloquear el desarrollo o de inhibir la actividad de fermentación.

Para la fermentación de las masas panarias se emplean levaduras del género *Saccharomyces cerevisiae*, estas transforman los azúcares, como glucosa y fructosa, produciendo anhídrido carbónico y alcohol. Entre los productos de fermentación, los ácidos volátiles están representados por pequeñísimas cantidades de ácido fórmico y cantidades mayores de ácido acético. Aunque en la fermentación alcohólica la formación de etanol representa la principal característica de las levaduras fermentantes, también son posibles otras actividades bioquímicas, relacionadas con el proceso de fermentación, entre éstas y en particular para algunas especies se destaca la formación de ácidos (Mondal, 2008).

La levadura, para que pueda producir una buena fermentación del pan debe tener fundamentalmente las siguientes características:

- Estado de conservación.
- Color de la levadura fresca.
- Sabor de la levadura.
- Grado de acidez de la levadura.
- Pureza de la levadura.
- Contenido de nitrógeno en la levadura.
- Actividad enzimática de la levadura (Quaglia,1991).

### **1.2.7 Azúcares**

Dentro la formulación de productos de panificación se encuentra el azúcar (sacarosa), que se encuentra de manera añadida y como parte de la composición de otros ingredientes utilizados en la elaboración de pan.

Los azúcares que están presentes en la masa del pan y de otros productos de horno son de varios tipos:

- Azúcares presentes en la harina, cerca del 1% son capaces de fermentar.
- Maltosa, azúcar derivado de la acción de la alfa-amilasa sobre el almidón presente en el harina, esta clase de azúcar es susceptible de fermentar y por lo tanto la cantidad presente derivada de la actividad enzimática tiene una importancia notable.
- Lactosa, azúcar no susceptible de fermentar que procede de la leche; por tanto su presencia está limitada en algunos tipos especiales de pan, donde está admitido la adición de leche en polvo en panes especiales con lactosa.

Los azúcares no susceptibles de fermentación tienen una notable importancia tecnológica ya que forman glicoproteína que tiene una función en la formación de la masa y por tanto también en las características reológicas de la misma.

Los azúcares fermentables son directamente la glucosa y la fructosa (dextrosa y levulosa), ya que la sacarosa se transforma en los dos azúcares que la constituyen mediante hidrólisis o por la acción de la invertasa de la levadura y la maltosa se convierte en dos moléculas de glucosa o dextrosa por la acción de la maltasa.

Esta propiedad de la glucosa y de la fructosa tiene una importancia relevante ya que la levadura debe tener a su disposición estos azúcares para producir anhídrido carbónico, que sirve para elevar la masa.

El anhídrido carbónico que se forma con la fermentación, primero se disuelve en el agua hasta la saturación, luego permanece libre, retenido en el gluten y hace crecer (aumentar) la masa. También se producen con la fermentación, ácidos, sustancias volátiles, alcoholes que confieren el aroma y sabor del producto.

La levadura inicialmente ataca los azúcares fermentables que están presentes en la harina, como la maltosa formada en la hidrólisis del almidón.

Los azúcares que se añaden a la masa, además de la función de conferir un sabor dulce y ser alimento para las levaduras, tienen efecto sobre la propiedad de absorción, sobre el tiempo de desarrollo de la masa y sobre las características organolépticas del producto.

El azúcar añadido en cantidad normal tiene un efecto muy limitado sobre la absorción de la masa: sin embargo a medida que aumenta la cantidad de azúcar adicionado, el tiempo de amasado es más largo.

El aumento del tiempo de amasado exigido cuando se añade azúcar se explica por un mecanismo competitivo del agua entre el azúcar y el gluten.

El color de la superficie del pan se debe a la reacción entre los azúcares y los aminoácidos (reacción de Maillard) y a la caramelización de los azúcares por el calor. El azúcar actúa también en la formación del aroma; por este motivo en los panes especiales donde se permite el empleo del azúcar se añade en cantidad mayor de la necesaria para producir anhídrido carbónico (Quaglia, 1991).

Conocer la función de cada uno de los ingredientes de la formulación base de un producto de panificación ha permitido a los desarrolladores innovar en este tipo de alimento, con la combinación de harinas dando como resultado panes de cualquier grano, siempre y cuando se guarde una proporción para la harina de trigo ya que esta es la única capaz de formar una red de proteínas fuerte. También se han fortificado y adicionado nutrientes tales como vitaminas y minerales, siendo incluso de carácter obligatorio por regulaciones de algunos países.

El uso de aditivos en los productos de panificación es para mejorar sus características organolépticas y alargar la vida de anaquel, volviendo el proceso más rentable para escalarlo a niveles industriales.

Es en esta evolución en el proceso de panificación que surge la segmentación del mercado, entre los consumidores que buscan un alimento práctico aunque producto de un proceso industrializado y los que prefieren un proceso tradicional, siendo estos los que están al pendiente de evitar aditivos como conservadores, saborizantes y colorantes artificiales.

Los compuestos que dan sabor en el pan son elementos clave para la aceptación e identificación del producto por el consumidor. Una categoría de panes especiales son los que tienen un proceso de fermentación realizado por microflora compleja de levaduras y bacterias ácido lácticas que le confieren sabores específicos que lo caracterizan. A pesar de que las levaduras tienen el papel más importante ya que permiten el aumento de volumen, las bacterias ácido lácticas producen componentes primordiales que dan sabor. Los panes ácidos se han convertido elementales para aquellos consumidores que dejaron los panes convencionales por los productos de panificación especiales (De Vuyst y Neysens, 2005).

Dentro de la panificación tradicional hay la categoría gourmet, donde los consumidores son personas aficionadas a las comidas exquisitas, por lo que la calidad de las materias primas y los procesos deben ser refinados e innovadores.

De acuerdo al INEGI, Producción y ventas netas de los establecimientos manufactureros por clase de actividad, familia y productos elaborados, 2003, (Tabla 6) existe en el mercado la siguiente clasificación de productos:

**Tabla 6. Variedades de pan de acuerdo al proceso tradicional e industria.**

Panificación Tradicional	Panificación Industrial
PAN BLANCO DE TRIGO	PAN BLANCO DE TRIGO
<ul style="list-style-type: none"> <li>BOLILLO, TELERAS Y SIMILARES, DE CAJA Y EN BARRA</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>BOLILLOS, TELERAS Y SIMILARES, EN BARRA, DE CAJA SIN TOSTAR, DE CAJA TOSTADO, PARA HAMBURGUESAS Y PARA SALCHICHAS</li> </ul>
PAN INTEGRAL DE TRIGO: DE CAJA Y DE BARRA	
OTROS PANES DE SAL: DE CENTENO Y DE SALVADO	PAN INTEGRAL DE TRIGO: EN BARRA, DE CAJA SIN TOSTAR Y DE CAJA TOSTADO
PAN DULCE	OTROS PANES DE SAL: DE CENTENO Y DE SALVADO
PASTELES Y PASTELILLOS	PAN DULCE
PRODUCTOS DE REPOSTERIA, BOCADILLOS Y EMPANADAS	PASTELES Y PASTELILLOS

Fuente: INEGI, 2003.

En este nicho del mercado tradicional se encuentran productos de bollería y en una de sus subclasificaciones el pan ácido. Tradicionalmente, los panes ácidos, se formulan con masas ácidas fabricadas con harina y agua que se adicionan a una porción de masa panaria proveniente de una operación anterior y se fermentan durante 4 horas, o durante 24 horas (León et al., 2006); es por la complejidad del proceso que se han buscado nuevas alternativas para lograr los resultados organolépticos deseados como la adición de Bacterias Acido Lácticas.

### 1.3 Bacterias Ácido Lácticas

Las bacterias ácido-lácticas (BAL o LAB por sus siglas en inglés) han sido utilizadas durante siglos en fermentaciones industriales y han despertado gran atención al ser empleadas en la industria farmacéutica y de alimentos (De Vos, 2004), especialmente para la obtención de ácido láctico, componentes saborizantes, espesantes y bacteriocinas, así como al considerable valor nutritivo que pueden aportar a los productos alimenticios y el bajo coste energético de su producción. Además, durante la última década se ha incrementado el número de estudios sobre el rol de que algunas cepas de BAL pudieran ser empleadas como cultivos probióticos (Topisirovic, 2006).

Se han utilizado bacterias lácticas para varios productos obtenidos de la fermentación de cereales, esto con la finalidad de mejorar sus características sensoriales y cualidades tecnológicas (Meignen, et. al., 2001).

Los lactobacilos son bacilos microaerófilos, gram positivos y catalasa negativos, estos organismos forman ácido láctico como producto principal de la fermentación de los azúcares (Madigan, et. al., 2004).

La clasificación de los Lactobacilos se ha basado en la fuente de donde se aislaron:

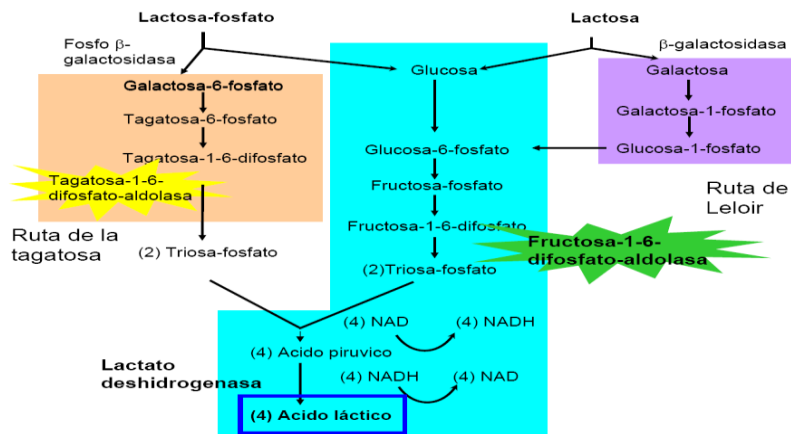
- ✓ Los **Homofermentativos** dan lugar a ácido láctico como producto principal de fermentación lo cual baja el pH y modifica las proteínas de la leche, forman compuestos que le dan aroma y aspecto diferente (diacetilo). Este grupo está integrado por *Lactobacillus caucasicus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus*, *Lactobacillus lactis* y *Lactobacillus acidophilus*.
- ✓ Los **Heterofermentativos** producen además de ácido láctico, dióxido de carbono, etanol y otros productos volátiles; *Lactobacillus fermenti* es heterofermentativo y es capaz además, de dar buen crecimiento a temperaturas elevadas (45°C).

Sus necesidades nutritivas son complejas, y la mayor parte de las cepas no puede cultivarse en los medios nutritivos ordinarios, a menos que se enriquezcan con glucosa y suero. Las necesidades individuales de aminoácidos varían de dos a 15; en general, se requiere piridoxina, tiamina, riboflavina, biotina, ácido fólico y ácido nicotínico.



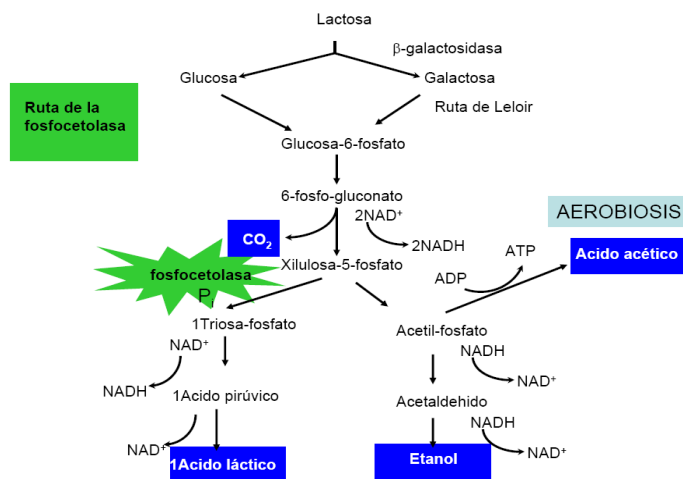
Algunos bacilos forman parte de la flora intestinal normal y pueden predominar en lactantes e individuos con ingestión elevada de azúcares, especialmente lactosa.

En las figuras 1 y 2 se muestran los mecanismos de la lactosa de bacterias lácticas homofermentativas y heterofermentativas.



**Figura 1: Mecanismo de la lactosa en bacterias lácticas homofermentativas**

En la figura 1 se observa como la glucosa se metaboliza por la vía glicolítica o ruta de Embden-Meyerhof y la galactosa entra por la vía de la lagatosa. Las enzimas clave que regulan este proceso son: aldolasas (responsables del paso de las hexosas difosfato a gliceraldehido 3P), piruvato kinasa (esencial para la formación de piruvato), lactato deshidrogenasa (LDH, que cataliza el paso de piruvato a ácido láctico). La actividad de los diferentes enzimas que intervienen en la vía metabólica y la formación de metabolitos correspondientes regulan la captación de lactosa por parte de la bacteria hasta que la acidez desarrollada frena la multiplicación de las bacterias Ácido Lácticas (Mestres, 2004).



**Figura 2: Mecanismo de la lactosa en bacterias lácticas heterofermentativas**

En la figura 2 se muestra como las bacterias lácticas heterofermentativas no pueden fermentar por la vía glicolítica. La presencia de glucosa-6-P- deshidrogenasa y de la fosfatasa permite el metabolismo por la ruta del 6-P-gluconato. La fosfoketolasa hidroliza el 6-P- gluconato a CO<sub>2</sub> y pentosa-5-P, que a su vez se convierte en gliceraldehido y acetil-P (Mestres, 2004).

En la elaboración de pan, se han encontrado beneficios en el uso de bacterias y levaduras en combinación. Por ejemplo, en la liberación de aminoácidos, péptidos y vitaminas realizadas por bacterias ácido lácticas (*Lb. Sanfrancisco*) estimuladas por levaduras (*S. cerevisiae*).

La interacción entre bacterias ácido lácticas y levaduras tiene efectos positivos en la producción de ácidos grasos volátiles, con variaciones de acuerdo a la cepa y su naturaleza homo o heterofermentativa (Meignen et.al., 2001).

Las fermentaciones en masas para elaborar pan ácido son un proceso tradicional. En el siglo pasado, las fermentaciones para masa ácida fueron reemplazadas por procesos de fermentación lineales e industrializados. Esta tendencia se ha revertido y se ha vuelto a utilizar este tipo de fermentaciones en el proceso. Muchos factores han influido para este repunte, incluyendo el creciente reconocimiento de la calidad sensorial de los panes ácidos como una estrategia de mercado, además de ser una solución para integrar fermentaciones tradicionales en la producción industrial de pan (Decock, 2005).

## 1.4 Fermentación

### 1.4.1 Fases de la fermentación

La fermentación se puede subdividir en 2 fases denominadas:

- **Reposo.** Periodo de fermentación que transcurre entre el final del amasado y el pesado de la masa, durante el cual la pasta sufre una serie de transformaciones que le confieren propiedades físicas que permiten cortarla.
- **Apresto.** Se indica el intervalo de tiempo comprendido desde que se le da vuelta o gira hasta la cocción.

Los tiempos relativos a las dos fases de fermentación dependen de las propiedades físicas de la masa (Frazier, 1985).

### 1.4.2 Aspectos Químicos de la fermentación

La levadura tiene dos funciones:

- Favorecer la maduración de la masa
- Producir gas para airear la masa y el pan

El mecanismo de producción del gas consiste en la transformación del azúcar en anhídrido carbónico y alcohol, esto depende de la presencia de levadura en la masa y de la cantidad de sustrato (azúcares fermentables) que contiene la harina.

La levadura y la temperatura ejercen una gran influencia sobre la fermentación.. Temperaturas por encima de los 28 °C deberán usarse para fermentaciones cortas de 1h a 1h con 30 minutos y para tiempos de fermentación largos de 2-4 horas a una temperatura de 25-27 °C.

Una temperatura de fermentación baja reduce la producción de gas, sucediendo lo contrario con temperaturas altas. La influencia de temperaturas altas incide en la calidad del pan, no sólo en el aumento de la actividad de las levaduras, sino también en las características del gluten.

Junto con el alcohol etílico y el anhídrido carbónico, metabolitos principales del proceso fermentativo, se encuentran siempre otros componentes. Entre éstos destaca la formación de glicerina a partir de la cual se forma acetaldehído, la glicerina tiene una reacción que depende de las aptitudes de los agentes fermentables, de la aireación, temperatura y sobre todo de la presencia de sustancias aptas para bloquear el acetaldehído.

A parte de alcohol etílico y de glicerina se forman otros alcoholes, polivalentes y monovalentes.

Entre los compuestos volátiles existen los aldehídos que se forman de la escisión del azúcar y que no se reduce a alcohol y que no se oxida a ácido acético; el ácido succínico es otro producto constante en la fermentación alcohólica.

En la fermentación alcohólica, la formación de etanol representa la principal característica de las levaduras fermentantes, las condiciones óptimas de la fermentación alcohólica de la masa panaria se establece a un pH próximo a 5, ya que a un pH más alto, la fermentación tiene lugar produciendo una cantidad excesiva de glicerina y ácido acético, además del alcohol etílico y el anhídrido carbónico (Frazier, 1985).

### **1.4.3 Fermentación Láctica**

La fermentación ácido láctica es aquella que se lleva a cabo por las bacterias ácido lácticas cuya actividad se desarrolla en ausencia de oxígeno (anaerobiosis), y se manifiesta en la transformación de los azúcares presentes en ácido láctico, etanol y dióxido de carbono.

La fermentación láctica tiene lugar por la hidrólisis de la lactosa o del azúcar común que producen glucosa y que finalmente se transforma en ácido láctico.

La temperatura óptima para la fermentación láctica, es de 35 °C, por lo que a la temperatura de fermentación de las levaduras, la fermentación láctica se produce muy lentamente. Por otra parte, una cantidad adecuada de ácido es fundamental ya que las levaduras requieren un ambiente ácido, que no puede ser proporcionado sólo por parte de la masa que normalmente tiene un pH comprendido entre 5.8 y 6.2. Además el ambiente ácido favorece la formación de gluten haciéndolo al mismo tiempo más extensible.

Sin embargo, una acidez elevada es desfavorable ya que conduce a una maduración excesiva (Frazier 1985).

#### **1.4.4 Proceso de fermentación ácido láctica**

- **Iniciación de la Fermentación:**

Durante la iniciación, las bacterias gram positivas y gram negativas presentes, compiten por el predominio; enterobacterias, bacterias aerobias formadoras de esporas, bacterias ácido – lácticas y otras bacterias, están muy activas.

Este estado incluye el crecimiento de unos pocos microorganismos facultativos y estratos anaeróbicos, pero seguidamente el establecimiento de las bacterias lácticas disminuye los valores de pH y son inhibidos los organismos indeseables como son las bacterias gram negativas y las formadoras de esporas, por lo tanto, la rapidez con que las bacterias ácido lácticas se establecen, los microorganismos indeseables son excluidos.

Eventualmente las bacterias ácido-lácticas ganan predominio por disminución del pH y ocurre la fermentación primaria.

- **Fermentación Primaria:**

Durante este estado, las bacterias ácido-lácticas y las levaduras fermentativas, constituyen la microflora predominante y su crecimiento continúa hasta agotarse los carbohidratos fermentables o hasta ser inhibidas por el pH formado por la propia bacteria láctica.

La capacidad amortiguadora y el contenido de carbohidratos fermentables del material, son factores importantes que determinan la magnitud de la fermentación de las bacterias ácido-lácticas y la magnitud de las consecuentes fermentaciones de las levaduras presentes. Varias especies de levaduras fermentativas también son activas durante la fermentación primaria. Si después de la fermentación primaria quedan azúcares fermentables, estos azúcares pueden permitir una fermentación secundaria.

- **Fermentación Secundaria:**

Dominada esencialmente por levaduras. Estos microorganismos son bastante tolerantes al ácido por lo que su actividad fermentativa continúa aún después de que las bacterias lácticas han sido inhibidas por los bajos valores de pH y pueden continuar hasta agotar los carbohidratos fermentables.

- **Post – Fermentación:**

Este estado comienza cuando los carbohidratos fermentados se han agotado (Frazier, 1985).

## 1.5 Creación y desarrollo de nuevos productos.

### 1.5.1 Proceso de desarrollo de nuevos productos

Comprenden desde la etapa de proyecto hasta la producción y venta. Es esencial una coordinación y sincronía de la dirección de la empresa. Los pasos para el lanzamiento de un producto al mercado son:

#### 1. Creación de ideas

Las ideas buenas se deben a una combinación de inspiración, trabajo y método de quienes las generan. Las técnicas para que surjan las ideas son:

- **Enumeración de atributos.** Listado de atributos o propiedades del producto y modificar alguno de ellos.
- **Relaciones forzadas.** Lista de ideas y se considera cada una de ella interrelacionándolas para estimular el proceso creador.
- **Análisis morfológico.** Análisis estructural del producto, se separan dimensiones importantes y se estudian las relaciones existentes entre ellas.
- **Lluvia de ideas.** Los encargados tienen que estimular la creación de ideas en reuniones.
- **Ferías.** Fuente de ideas confiable para mejorar los productos actuales.

#### 2. Selección de ideas

Clasificación de diversas propuestas por orden de categorías, eligiendo el conjunto más atractivo posible dentro de los recursos de la empresa. Deben procurar en no caer en 2 tipos de error: **omisión** (desechar una idea útil) y **comisión** (desarrollar y comercializar una mala idea).

#### 3. Desarrollo del producto

Se desarrolla un prototipo o modelo que pueda elaborarse a un bajo costo y que atraiga a los clientes. Se realiza un sondeo de mercado para saber cómo diseñar mejor el producto.

#### 4. Mercado de prueba

Se ensaya por primera vez el producto en su mercadotecnia y en ambientes reducidos y bien seleccionados; se realiza una investigación formal del producto

#### 5. Comercialización

Inversión fuerte tanto en dinero como en personal especializado; un factor importante que debe considerarse es la competencia, factor para el éxito y futuro del producto (Kotler, 1996).

### 1.5.2 Planeación y decisiones del producto

La planeación es la creación del producto y es el punto de partida para llevar a cabo el programa de mercadotecnia. El primer paso es hacer un estudio de comportamiento de mercado para conocer si hay posibilidad de colocar el producto.

La planeación del producto son las actividades que permiten a los productores determinar qué línea de productos debe adoptar la compañía. Asegura que todo el conjunto de productos tenga una relación lógica y sean justificables; es necesario realizar una investigación de la estimación del mercado real, industrial y potencial, de las ventas reales para determinar la alternativa de desarrollo del producto.

Las decisiones de una empresa en relación con el producto son:

- ✓ Elaborar sus productos totalmente
- ✓ Elaborar un producto parcialmente
- ✓ Elaborar algunas partes y comprar otras (Kotler, 1996).

### **1.5.3 Marca**

Las marcas proporcionan la base sobre la cual los consumidores pueden identificar un producto o servicio, o un grupo de productos o servicios y vincularse con ellos. El nombre de la marca nos garantiza que sus rasgos y características permanecerán inmutables de una compra a la otra. De este modo la marca proporciona a su fabricante los medios para ofrecer constantemente al consumidor un valor intrínseco, o la ilusión de dicho valor, o ambos (Weilbacher, 1999).

Ha sido un signo de propiedad personal; protege la propiedad del fabricante y se penaliza su uso indebido, se ha convertido en un enlace entre el productor y el consumidor.

En el Instituto Mexicano de Propiedad Industrial es donde se llevan a cabo los trámites relacionados con la marca. La marca es un nombre, término simbólico que sirve para identificar los productos o servicios de un vendedor y para diferenciarlos de los productos de los competidores (Kotler, 1996).

Los objetivos de la marca son:

- ✓ Diferenciación de la competencia
- ✓ Signo de garantía y calidad
- ✓ Prestigio y seriedad
- ✓ Posicionar el producto

Una marca debe tener un nombre corto, fácil de recordar, con sentido moral y agradable a la vista. El uso de una marca tiene ventajas pues el producto se identifica con facilidad, protege a los consumidores asegurando la calidad y ayuda al fabricante a estimular las ventas (Kotler, 1996).

### **1.5.4 Empaque**

El envase es el elemento encargado de proteger y presentar el producto. Se utiliza como elemento de diferenciación del producto, incorporando marcas, emblemas, logotipos, gráficos y colores que favorezcan su clasificación y compra (Agueda, et. al, 2002).

El empaque es cualquier material que encierra un artículo con o sin envase, con el fin de preservarlo, facilitar su entrega al consumidor y ser promotor del artículo dentro del canal de distribución.

Se divide al empaque en 3 divisiones: primario que es el envase inmediato del producto, secundario que es el material que protege al empaque primario (Kotler, 1996) y terciario o embalaje que tiene el conjunto de elementos necesarios de protección para el almacenamiento y transporte y que, generalmente no llega a los consumidores (Agueda, et. al, 2002).

El problema que enfrenta la industria es crear el empaque óptimo para cada producto y que cumpla la función de protección (Kotler, 1996).

### **1.5.5 Etiqueta**

La etiqueta forma parte del envase y su función es detallar las ventajas y características del producto, facilitando la identificación, sobre la fecha de caducidad, componentes del producto, fabricante, marca, conservación y capacidad del producto. Las funciones principales que cumple una etiqueta se centran en identificar el producto mediante elementos como la marca, indicar la calidad, describir las características del producto y facilitar su promoción (Agueda, et. al, 2002).

Su función es identificar al producto, poseer un instructivo que explique su uso, contenido, fórmula, etc. Es la parte del producto para distinguirlo de los demás y proporcionar información acerca de él para que tanto el vendedor como consumidor conozcan la calidad y servicio del mismo.

Los elementos de la etiqueta son:

- ✓ Marca registrada
- ✓ Nombre y dirección del fabricante
- ✓ Denominación del producto y naturaleza del mismo
- ✓ Contenido neto
- ✓ Número de registro de la Secretaría de Salud
- ✓ Composición del producto
- ✓ Código de barras
- ✓ Aditivos
- ✓ Fecha de fabricación
- ✓ Campaña de conciencia ecológica

Los productos tienen un código de barras con un listado de rayas de diferentes grosores hasta con 12 números que los identifican (Kotler, 1996).



## **2. Metodología**

## **2. METODOLOGÍA**

### **2.1 Objetivo General**

Desarrollar un producto de panificación con características específicas (acidificado) mediante la adición de bacterias Ácido Lácticas para fines de comercialización.

### **2.2 Objetivo Particular 1**

Conocer la viabilidad del producto en el mercado mediante la investigación de los antecedentes, competencia y situación actual de los productos de panificación tipo gourmet, además de la realización de encuestas a diferentes sectores de la población, para su posterior comercialización.

Para conocer que tan viable será el pan ácido en el mercado:

#### **2.2.1 Estudio del mercado (Encuestas).**

Se realizaron encuestas a diferentes sectores de la población, se entrevistaron a 40 personas, siendo hombres y mujeres entre 18 y 40 años de edad (Apéndice).

### **2.3 Objetivo Particular 2**

Elaborar panes con distintas cepas de Bacterias Ácido Lácticas y mediante pruebas de evaluación sensorial seleccionar aquella que proporcione atributos de acidez.

#### **2.3.1 Establecimiento la formulación base.**

Se elaboraron formulaciones de pan, a fin de establecer la formulación base.

Los ingredientes de la formulación fueron: harina 60.9%, agua 34.8%, sal 1.1%, levadura 2.43% y bacterias ácido lácticas 0.61%. Se realizaron de acuerdo a la descripción del proceso en el punto 2.5

#### **2.3.2 Elaboración de panes con distintas cepas de Bacterias Ácido Lácticas.**

Una vez establecida la formulación base, se elaboraron panes modificando dos variables: las cepas de BAL, donadas por el laboratorio de Bacteriología de Posgrado de la FES Cuautitlán UNAM, y el medio de cultivo para su crecimiento. Para de seleccionar, por medio de evaluación sensorial, aquellas que proporcionen los atributos sensoriales de acidez deseados.

El nivel de variación fue de 6 cepas distintas, los *Lactobacilos* codificados como 746, 432, 529, 912, 876 y 216; esto con la finalidad de encontrar la que aportara el perfil de sabor ácido deseado en el producto de panificación. Para la variable medio de crecimiento fue de 2 niveles, medio Rogosa-Sacarosa y medio Leche-Sacarosa, donde la diferencia radica en la

concentración y tipo de carbohidratos presentes, pues se necesitaba evaluar si existía interferencia del medio de crecimiento con el perfil de sabor.

El total fue de 12 experimentos donde los resultados se obtuvieron por medio de una prueba sensorial de Ranking, esta prueba es una diferenciación por escalas, que es la adecuada para saber que variantes de una formula son las mejor aceptadas, se llama así porque las categorías se ordenan de mayor a menor o viceversa (Sancho, et.al., 1999). Se numeraron del 1 al 6, para saber si había diferencia significativa entre ellas en el atributo de acidez. Siendo la 1 la más ácida y 6 la menos ácida.

Una vez realizada la prueba de Ranking, se hizo una evaluación sensorial donde por medio de una escala hedónica, que es una prueba donde el equipo o panel de catadores clasifica las muestras con relación a la preferencia o nivel de agrado. En este caso el panel fue el equipo de desarrolladores y personal del Laboratorio de Microbiología y se discutieron en una mesa redonda cuales eran las diferencias en las formulaciones.

Las muestras se presentaron al equipo codificadas y de manera aleatoria. Se evaluaron los siguientes parámetros: aroma, acidez, resabio y sabor en general en escala de 1, me disgusta muchísimo, al 9, me gusta muchísimo; para conocer las de mejor desempeño sensorial.

### **2.3.3 Selección de medio de crecimiento.**

Después se elaboraron panes para definir cual de los medios era el más adecuado para el desarrollo del perfil ácido del pan saborizado con bacterias Ácido Lacticas. La variable fue el medio de crecimiento, a dos niveles de variación, el medio Rogosa-Sacarosa y Leche-Sacarosa. Como en este caso lo que se buscaba era conocer la influencia del medio de crecimiento, se mantuvo constante la cepa de BAL y se utilizó la 6M (432), seleccionada de manera indistinta pues tanto esta cepa como la 382 (876) se desempeñaron bien y de manera similar en la evaluación de la actividad anterior.

Se realizó una prueba sensorial de aceptación con escala hedónica de 9 puntos donde 1 equivale a me disgusta muchísimo y 9 me gusta muchísimo, esto para conocer la opinión del consumidor respecto a los atributos de aroma, acidez y resabio. Las muestras se presentaron una a una con un orden de servicio aleatorio y codificado por un número de tres dígitos, 558 para la muestra preparada con medio Leche-Sacarosa y 721 para la muestra Rogosa-Sacarosa; para que fueran calificadas por 30 consumidores, hombres y mujeres entre 18 y 30 años.

#### **2.3.3.1 Crecimiento en el medio seleccionado.**

Se verificó este fuera el medio de crecimiento que favoreciera el crecimiento de las BAL, para definirlo como el adecuado para la formulación del producto de panificación, mediante el conteo de UFC por el método de Miles y Misra.

### **2.3.4 Selección de la bacteria Ácido Láctica respecto a la velocidad de crecimiento.**

Después de haber realizado las distintas formulaciones de pan (721 y 558) con su respectiva evaluación sensorial, el siguiente paso fue realizar una curva de crecimiento (Apéndice) a las cepas de *Lactobacilo* 6M y 382, y se eligió a la que presentó la mayor a la velocidad de reproducción.

Además con la curva de crecimiento se determinó el tiempo de la primera fermentación, al definirse como aquel en que empieza la fase estacionaria de la BAL seleccionada.

#### **2.3.4.1 Determinación de acidez y pH durante la curva de crecimiento.**

Durante la realización de la curva de crecimiento de la actividad 2.3.4, se determinaron los parámetros de acidez y pH para conocer la cepa que produce una mayor acidez en el tiempo de la primera fermentación del proceso de elaboración del pan.

### **2.3.5 Establecimiento de la formulación final modificando las concentraciones de bacteria Ácido Láctica seleccionada.**

Se realizaron distintas formulaciones de panes modificando las concentraciones del *Lactobacilo* seleccionado 6M, utilizando el medio Leche-Sacarosa para su crecimiento, en tres niveles de variación que fueron 4ml (472), 8 ml (136) y 12 ml (512) y siguiendo el proceso de elaboración establecido.

Las formulaciones se evaluaron mediante pruebas sensoriales de preferencia, por la técnica de Ranking, la de mayor aceptación por el consumidor se estableció como formulación final.

Previamente se hicieron preguntas respecto a atributos específicos de resabio, acidez y sabor en general donde el consumidor contestó en escala hedónica del 1 al 9, donde 1 significa me disgusta muchísimo y 9 me gusta muchísimo

Las muestras se presentaron una a una de manera aleatoria y codificada, para que fueran calificadas por 30 consumidores, hombres y mujeres entre 18 y 30 años.

#### **2.3.5.1 Determinación de la propiedad de dureza en las formulaciones comparando contra un control sin BAL.**

Se determinó la propiedad de dureza en las formulaciones donde se modificaron las concentraciones de BAL para evaluar si existía mejora al compararla contra un control sin *Lactobacilo* mediante pruebas de textura.

La prueba se realizó mediante un penetrómetro, que es un instrumento que se basa en la fuerza que ejerce un vástago cilíndrico, aguja, cono o bola en el alimento para penetrarlo. Las mediciones se realizaron por triplicado.

### **2.4 Objetivo Particular 3**

Establecer las especificaciones de envase, etiqueta y embalaje adecuadas al producto de forma bibliográfica para su posterior comercialización.

La etiqueta se realizó de acuerdo a la regulación mexicana vigente NOM 051-SCFI-1994 y la especificación de empaque tomando en cuenta las características del producto, para que le permita alcanzar la vida de anaquel y permita la correcta exhibición del producto.

### **2.5 Descripción del Proceso. Diagrama de Bloques**

#### **Inoculación:**

Se inoculan las bacterias Ácido Lácticas en los medios Rogosa-Sacarosa o Leche-Sacarosa, y se mantienen en una cámara de crecimiento a 30 ° C durante 24 horas.

#### **1er Mezclado:**

Se toma 1 ml del inóculo de BAL en medio y el 30% de cada uno de los componentes de la masa, excepto la levadura y se hace un mezclado manual por 5 minutos de éstos ingredientes, para posteriormente realizar un amasado.

#### **Amasado:**

Una vez mezclada la fórmula, se amasa manualmente por 15 minutos hasta que los ingredientes queden totalmente incorporados para su posterior fermentación.

#### **1ª Fermentación:**

Una vez que todos los ingredientes han sido incorporados con el amasado, se fermenta a 30 °C durante 12 horas, en una cámara de crecimiento para lograr la acidificación de la masa por acción de las bacterias Ácido Lácticas. La primera fermentación es un punto crítico pues en este paso se consigue el sabor ácido de la masa.

#### **2do Mezclado:**

Después de la acidificación de la masa, se realiza un mezclado manual por 5 minutos de la masa de la primera fermentación con la levadura y el resto de la harina y agua, de acuerdo a la formulación.

#### **2a Fermentación:**

Los panes se arman en los moldes para pan y se fermentan durante 2 horas a 30°C en una cámara de crecimiento. Esta fermentación es un punto crítico pues permite la acción de la levadura sobre la masa, esto permite que se desarrolle la textura del producto.

## Horneado:

El horneado se realiza a 220 °C durante 30 minutos para piezas de 100 g de harina. Siendo un punto crítico de seguridad alimentaria, pues es un proceso de eliminación de microorganismos patógenos por temperatura (León et al., 2006).

En la figura 3 se muestra el diagrama de bloques con las condiciones de entrada a cada uno de los procesos involucrados en el desarrollo del producto de panificación.

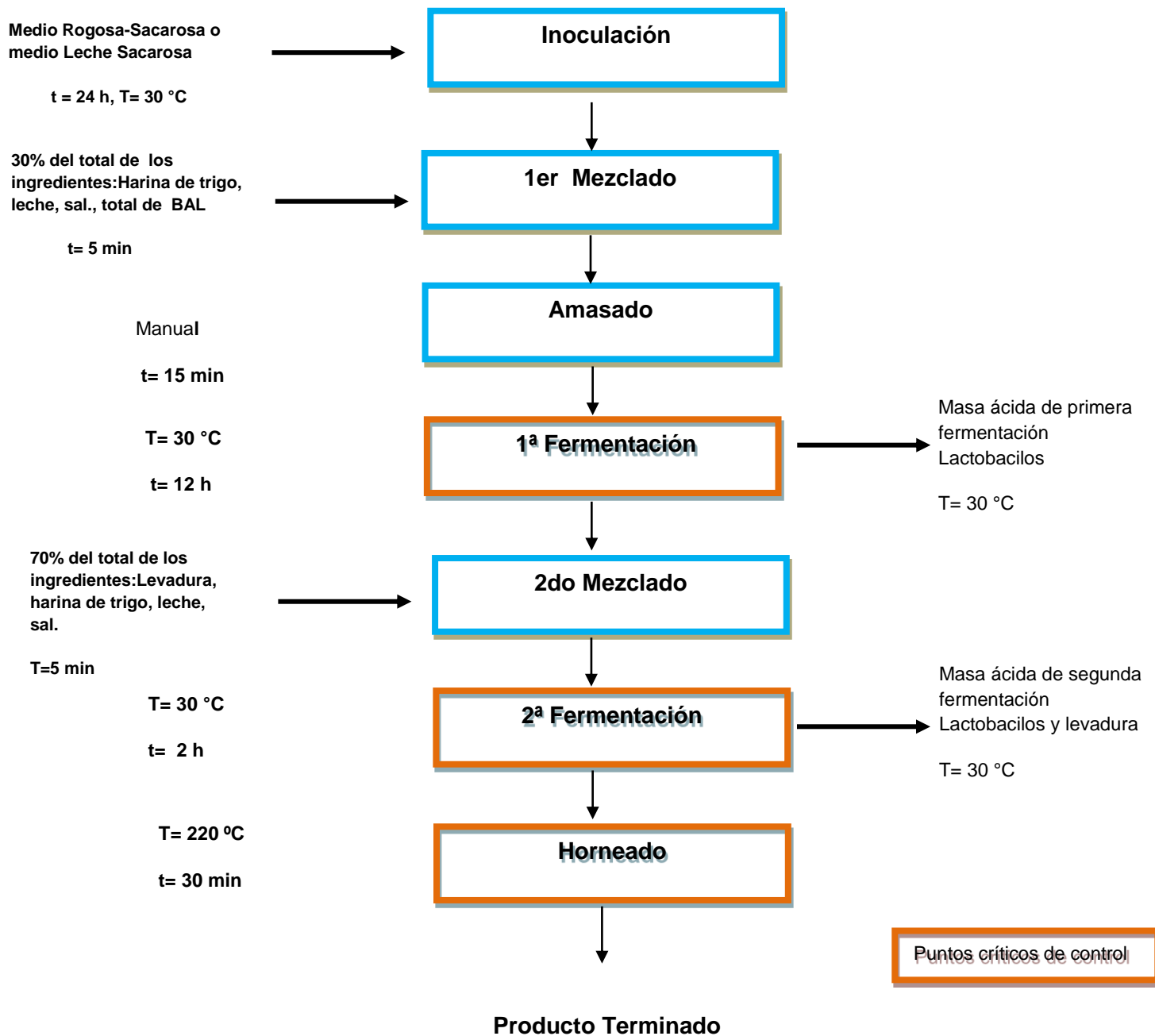


Figura 3. Descripción del proceso. Diagrama de bloques del producto de panificación (León et al., 2006).

## **3. Resultados y Análisis**

### **3. RESULTADOS Y ANÁLISIS**

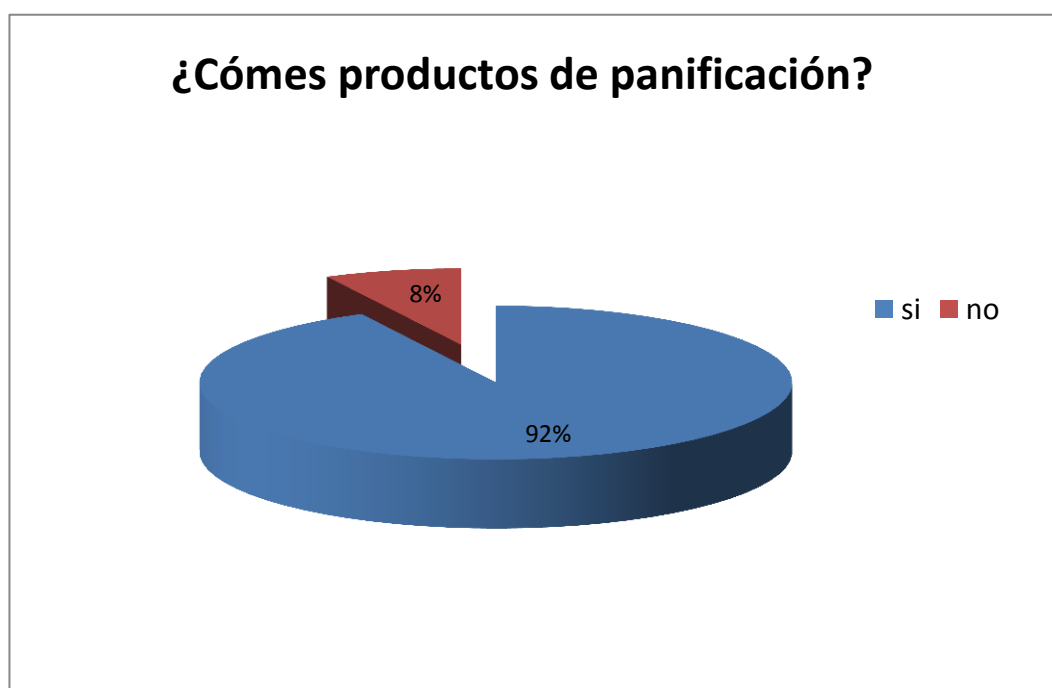
De acuerdo a la metodología presentada a continuación se muestran los resultados de las actividades relacionadas a cada uno de los objetivos planteados:

#### **3.1 Objetivo Particular 1**

##### **3.1.1 Estudio de mercado (Encuestas).**

A continuación se presentan los resultados de encuestas para el estudio de mercado; fue realizado a 40 personas, hombres y mujeres de 18 a 40 años:

La respuesta a la pregunta respecto al consumo de productos de panificación se muestra en la Figura 4.

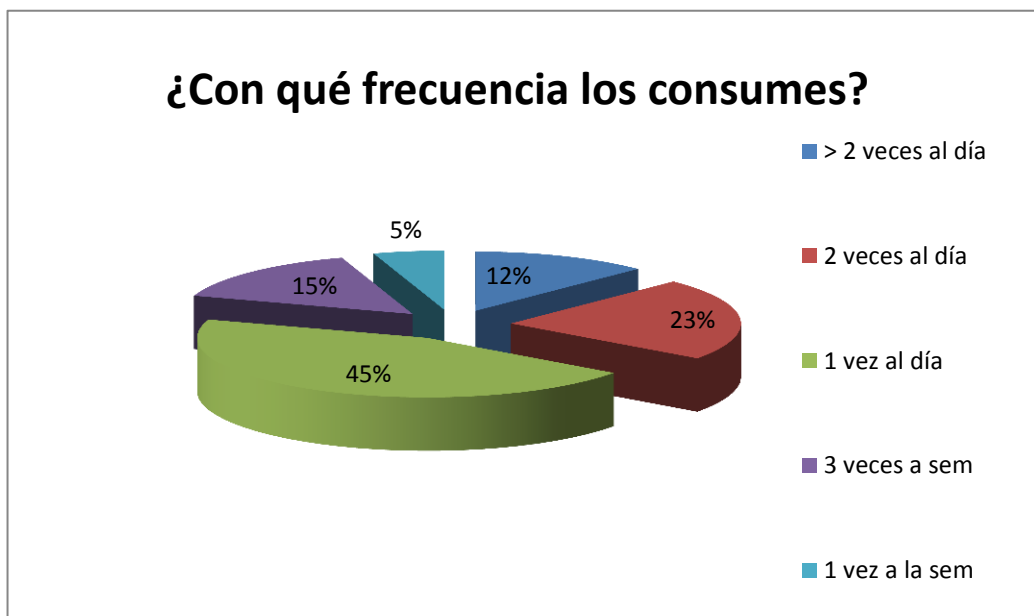


**Figura 4. Gráfico de resultados de consumo de productos de panificación.**

En el estudio de mercado realizado se encontró que el 92% de las personas encuestadas consumen productos de panificación, lo que nos da a entender que estos productos están bien posicionados en el mercado y son de consumo habitual. El pan blanco, pasteles y pastelillos están dentro de los alimentos de la canasta básica mexicana, esto confirma que se encuentra dentro de la dieta de los consumidores.

La Figura 5 presenta la frecuencia de consumo de los productos de panificación, los resultados se muestran en el siguiente gráfico.





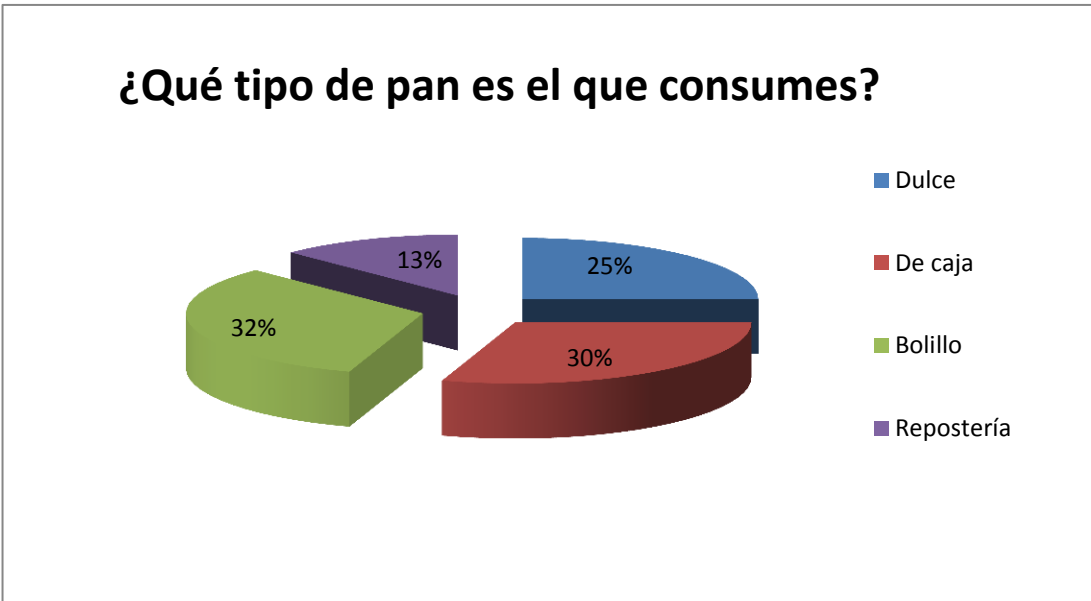
**Figura 5. Gráfico de Resultados de frecuencia de consumo de productos de panificación.**

La encuesta demostró que los productos de panificación son de alto consumo, ya que la mayoría lo consume por lo menos una vez al día. El hábito de consumo de este producto no solo se remite al desayuno, comida o cena; también puede ser entre comidas como alimento indulgente.

Existe el mito de que la ingesta del pan no es parte de una buena alimentación, por los carbohidratos presentes en él, lo cierto es que estos son fundamentales en toda dieta equilibrada y deben consumirse en todas las comidas del día.

El resultado a la pregunta sobre que tipo de pan es el que el consumidor acostumbra comprar se encuentra en la figura 6.

Los tipos de productos de panificación están muy diversificados, ya que se encuentra en versiones dulces y saladas, para comer a diario y en eventos especiales, para acompañar los alimentos y para saciar antojos. En la encuesta se trató de cubrir este universo preguntando sobre productos como: pan dulce, de caja, bolillo y repostería. Los resultados muestran porcentajes de consumo similares en pan dulce, de caja y bolillo, y como se esperaba la repostería con el porcentaje más bajo pues este es un producto de ocasión.

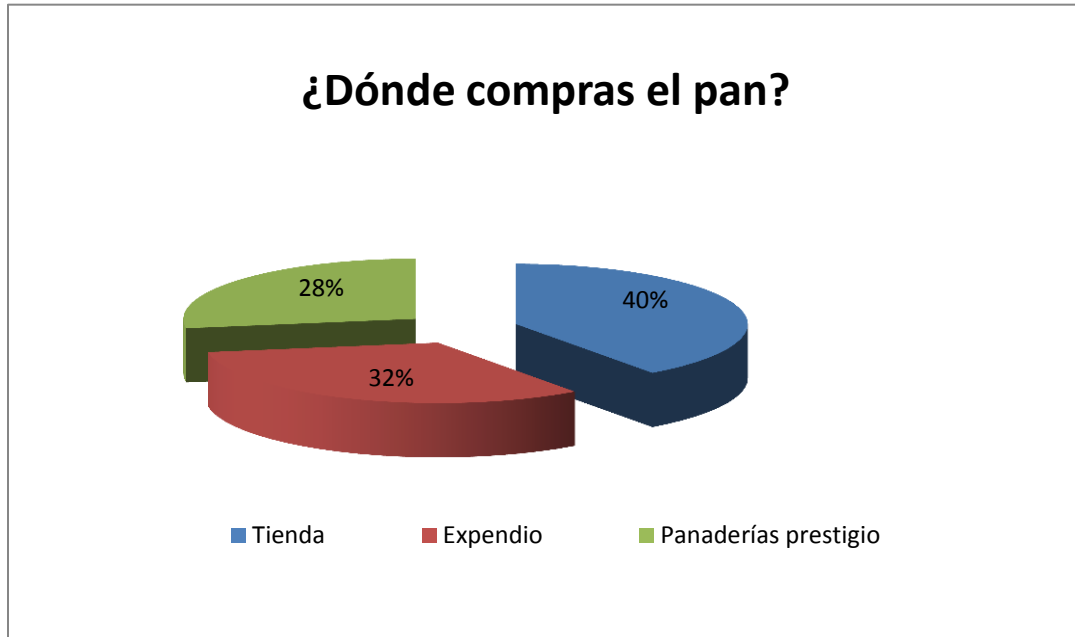


**Figura 6. Gráfico de Resultados del tipo de panes de consumo o compra.**

Los resultados denotaron que el consumidor está familiarizado con los diferentes productos de panificación; y dieron un indicativo de que la preferencia está en aquellos que acompañan los alimentos, pues abarcan el 62% del consumo. Por lo anterior la recomendación en el desarrollo del producto de panificación de este trabajo sería un pan tipo bolillo o de caja, pues podría encontrar un mejor posicionamiento en el mercado.

Con el fin de conocer en cual de los mercados se encuentra el mayor consumo, se realizó la pregunta de en donde el consumidor compra el producto; los resultados se presentan en la figura

7.



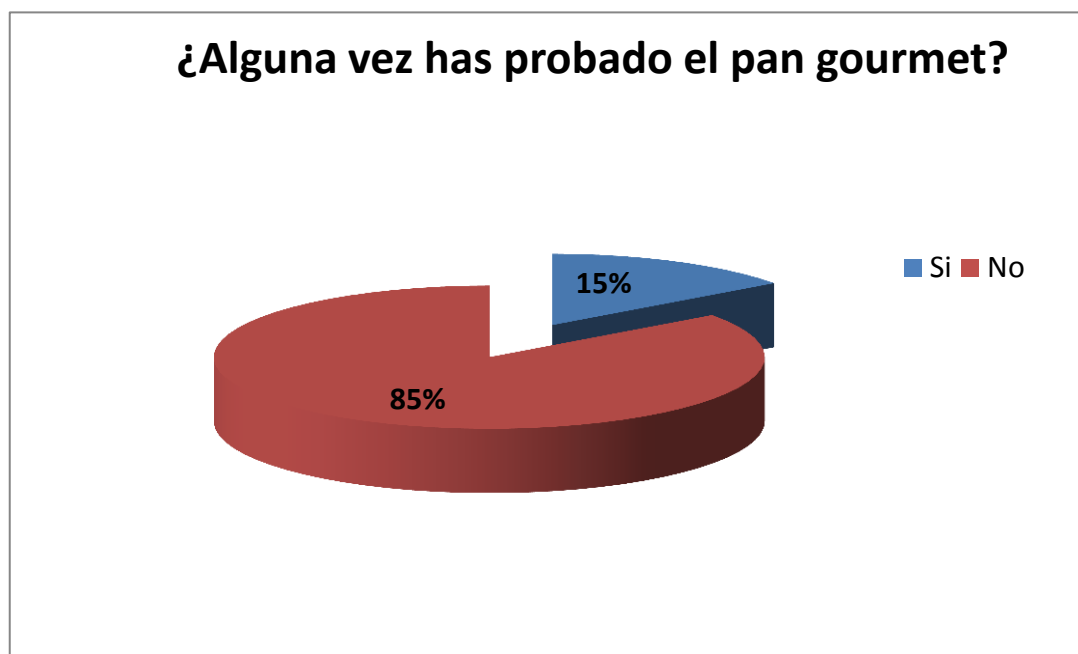
**Figura 7. Gráfico de Resultados de lugar de compra.**

De acuerdo a los resultados, el mayor porcentaje de compra se encontró en establecimientos tipo tiendas. Esto pudo obedecer a varias razones; una de ellas fue la disponibilidad del producto; en las tiendas los productos de panificación presentes son los de marcas como Bimbo, Wonder, Don Toño, entre otras; donde con sus grandes redes de distribución garantizan el abasto en estos sitios por lo que rara vez el consumidor se irá insatisfecho por no encontrar lo que estaba buscando.

Otra razón pudo ser porque el consumidor encuentra una tienda muy fácilmente, prácticamente en cada esquina, eso hace mucho más fácil la adquisición de productos.

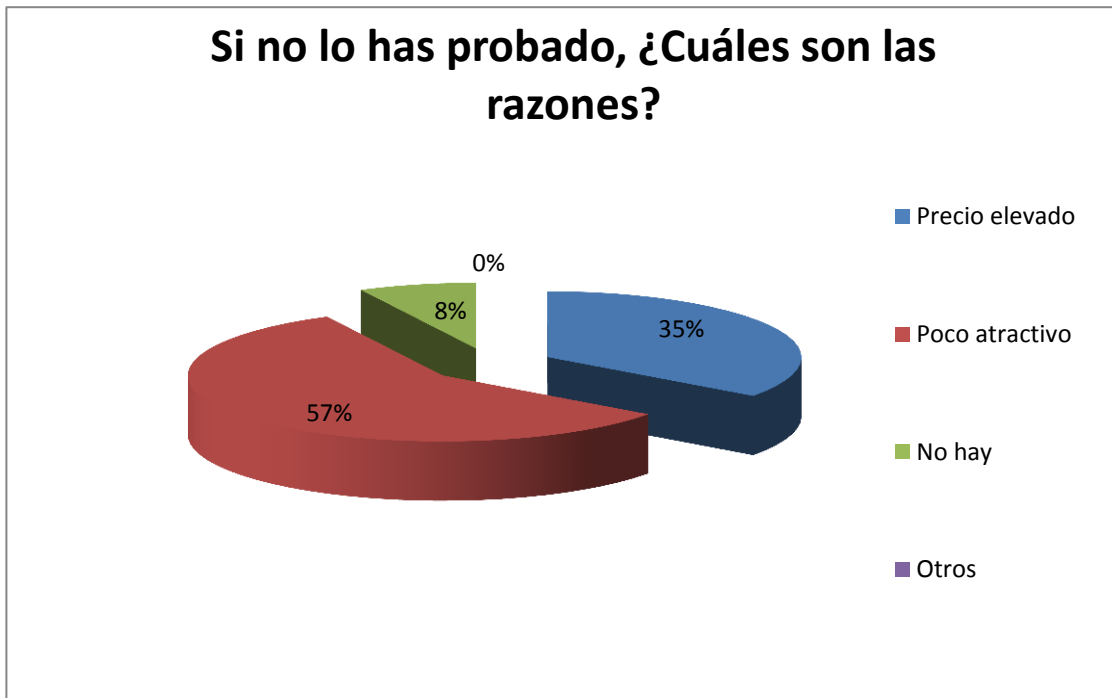
Para saber que tan familiarizado está el consumidor con los productos gourmet, se preguntó si alguna vez lo

han probado, los resultados se observan en la figura 8.



**Figura 8. Gráfico de Resultados de consumo de pan gourmet.**

La mayoría de los encuestados refirió que nunca ha probado pan de tipo gourmet. Como ya se ha mencionado, estos productos son relativamente nuevos en el mercado y están orientados a un sector específico de la población, esto hace que la propaganda y distribución de ellos no sea masiva; el precio también juega un papel importante pues regularmente son más elevados y este puede ser también un factor en decisión de compra. Para conocer las razones del porque los encuestados no conocen el pan gourmet se formuló una pregunta y los resultados se representan en la figura 9.



**Figura 9. Gráfico de Resultados de razones de consumo o compra del pan gourmet.**

A la mayoría de las personas encuestadas el concepto pan gourmet les pareció poco atractivo, por esta razón la mercadotecnia detrás del producto es indispensable para generar un concepto que determine el éxito. Se debe hacer hincapié a las diferencias del producto gourmet en comparación del pan común e informar al consumidor acerca de los ingredientes utilizados y el método de elaboración que, en muchos de los casos, son especialmente seleccionados.

Se debe tener en cuenta que el precio, aunque de acuerdo a la encuesta representó un porcentaje menor en las razones de porque no han probado un pan gourmet, es un producto muy sensible al precio y por esta razón tiene que ser muy dinámico en cuanto a sus estrategias de mercado con el objetivo de tener un crecimiento de mercado constante, un ejemplo es ofrecerlo en empaques que sean más accesibles. El consumidor recurre a otras marcas no por deslealtad sino por necesidad y, en algunos casos, según el producto, abandona la categoría (Galindo, 2001).

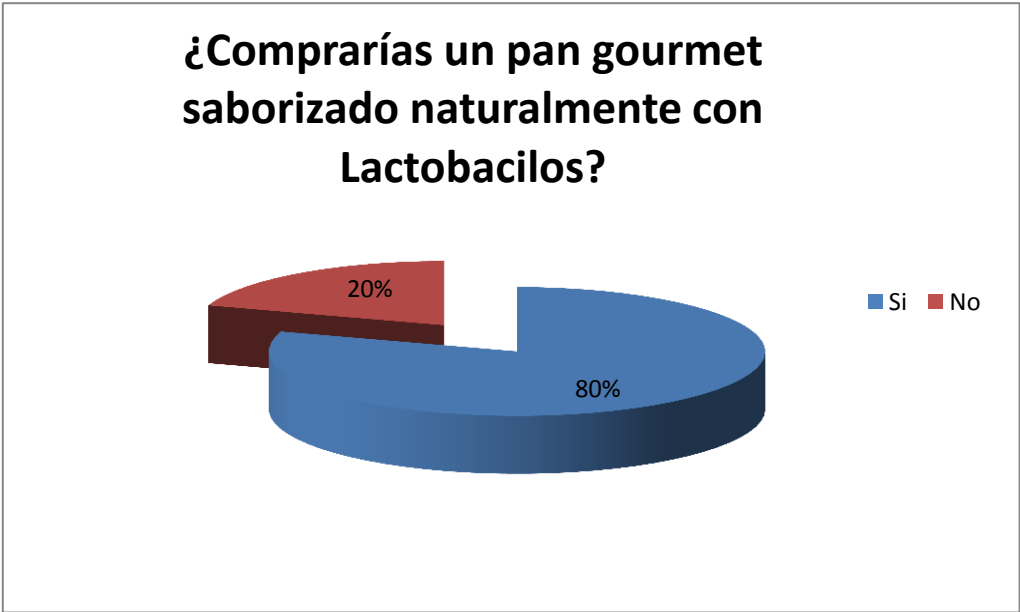
En la figura 10 se muestran los resultados de preguntar a los encuestados si una vez mejorando los aspectos negativos se interesarían en un pan gourmet.



**Figura 10. Gráfico de Resultados de compras de pan gourmet.**

Esta pregunta fue para confirmar que exista la intención de compra, si el encuestado seguía en la postura de no comprar el producto aun después de resolverse los aspectos negativos como lo atractivo del producto y el costo, es que existe otra razón no expresada por la cual no compraría el producto y se tendría que profundizar a ese respecto; no obstante los resultados demuestran que el 90% de la muestra utilizada compraría el producto por lo que continuar con el desarrollo del pan gourmet es un proyecto viable.

En la figura 11 se cuestiona respecto al producto de panificación saborizado con Lactobacilos, si este sería un producto atractivo a la compra.



**Figura 11. Gráfico de Resultados de consumo de pan adicionado con Lactobacilos.**

En la actualidad hay gran interés en los alimentos saludables, en el mercado existe una elevada cantidad de productos con Lactobacilos; en ellos se comunica los beneficios a nivel gastrointestinal que estos microorganismos traen al incluirlos en la dieta. Puede ser esto lo que motive a los encuestados a probar el pan gourmet pues el 80% esta dispuesto a hacerlo.

En el producto de panificación desarrollado, las bacterias Ácido Lácticas no tienen función probiótica, pues se pierden en el proceso por las altas temperaturas del horneado; pero la imagen positiva que tienen puede aprovecharse con fines mercadológicos, siempre respetando la normatividad y los códigos de ética para evitar engaño al consumidor.

Se preguntó a los encuestados si conocían alguna marca de pan gourmet, los resultados se presentan en la Figura 12.



**Figura 12. Gráfico de Resultados de competencia de pan gourmet.**

La mayoría de las personas encuestadas no conoce alguna marca de pan gourmet, lo reflejó que no existe un competidor directo o conocido para pan gourmet, esto permite establecer una estrategia de mercado más flexible ya que no existe punto de referencia o comparación para el consumidor.

Una vez realizado el estudio de mercado, donde se evaluó la viabilidad de la comercialización del producto de panificación, se llevó a cabo la parte experimental.

## 3.2 Resultados del Objetivo Particular 2

### 3.2.1 Establecimiento de la formulación base.

Se tomó como referencia a León y col. (2006), pero fue necesario modificarla a fin de obtener resultados satisfactorios en el producto, en la tabla 7 se muestra el comparativo de las formulaciones.

La modificación fue en las cantidades agregadas de bacterias Ácido Lácticas, con la finalidad de tener mejor control en las cantidades de BAL utilizadas, pues 1mL es una cantidad muy pequeña para dosificar y conseguir un sabor ácido perceptible en el producto. Por lo anterior se decidió incrementar cuatro veces más la cantidad de BAL para conseguir saborizar el pan.

Además se decidió utilizar leche en la formulación, pues confiere mejores características sensoriales al producto.

**Tabla 7. Comparación de formulación inicial y formulación modificada para el producto de panificación.**

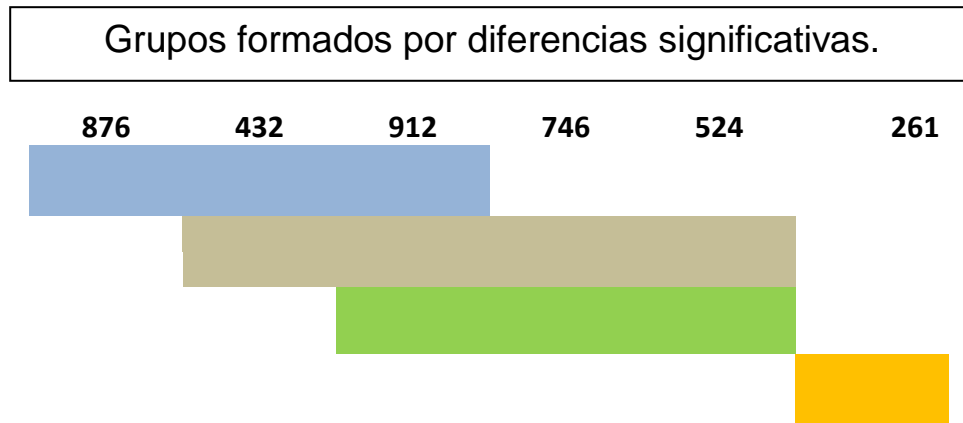
Formulación Inicial			Formulación modificada		
<b>Ingredientes</b>	<b>Cantidad</b>	<b>%</b>	<b>Ingredientes</b>	<b>Cantidad</b>	<b>%</b>
Harina de trigo	100 g	60.99	Harina de trigo	100 g	59.88
Agua	57.2 g	34.87	Leche	57.2 g	34.25
Sal	1.8 g	1.1	Sal	1.8 g	1.07
<i>S. cerevisiae</i> (Levadura)	4 g	2.43	<i>S. cerevisiae</i> (Levadura)	4 g	2.4
BAL	1 mL	0.61	BAL	4mL	2.4
Total	164g	100	Total	167g	100
Fuente: (León et al., 2006)					

La fórmula modificada fue la establecida como formulación base para continuar con las actividades del objetivo 2 al presentar mejores características sensoriales y facilitar el manejo de ingredientes.

### 3.2.2 Elaboración de panes con distintas cepas de Bacterias Ácido Lácticas.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba Sensorial de Ranking realizada a las formulaciones con las 6 diferentes cepas de bacterias ácido lácticas codificadas (876, 432, 912, 746, 524 y 261), el tratamiento estadístico hecho a los datos fue un análisis de Friedman, donde  $T$  calculada (18.82) >  $T$  de tablas (11.07) por lo tanto alguna de las muestras es significativamente diferente en el atributo de acidez.

Después se calculó el LSDRank para determinar que muestras tenían diferencias significativas, los resultados se muestran en la figura 13.



**Figura 13. Gráfico que representa las diferencias significativas entre las cepas evaluadas.**

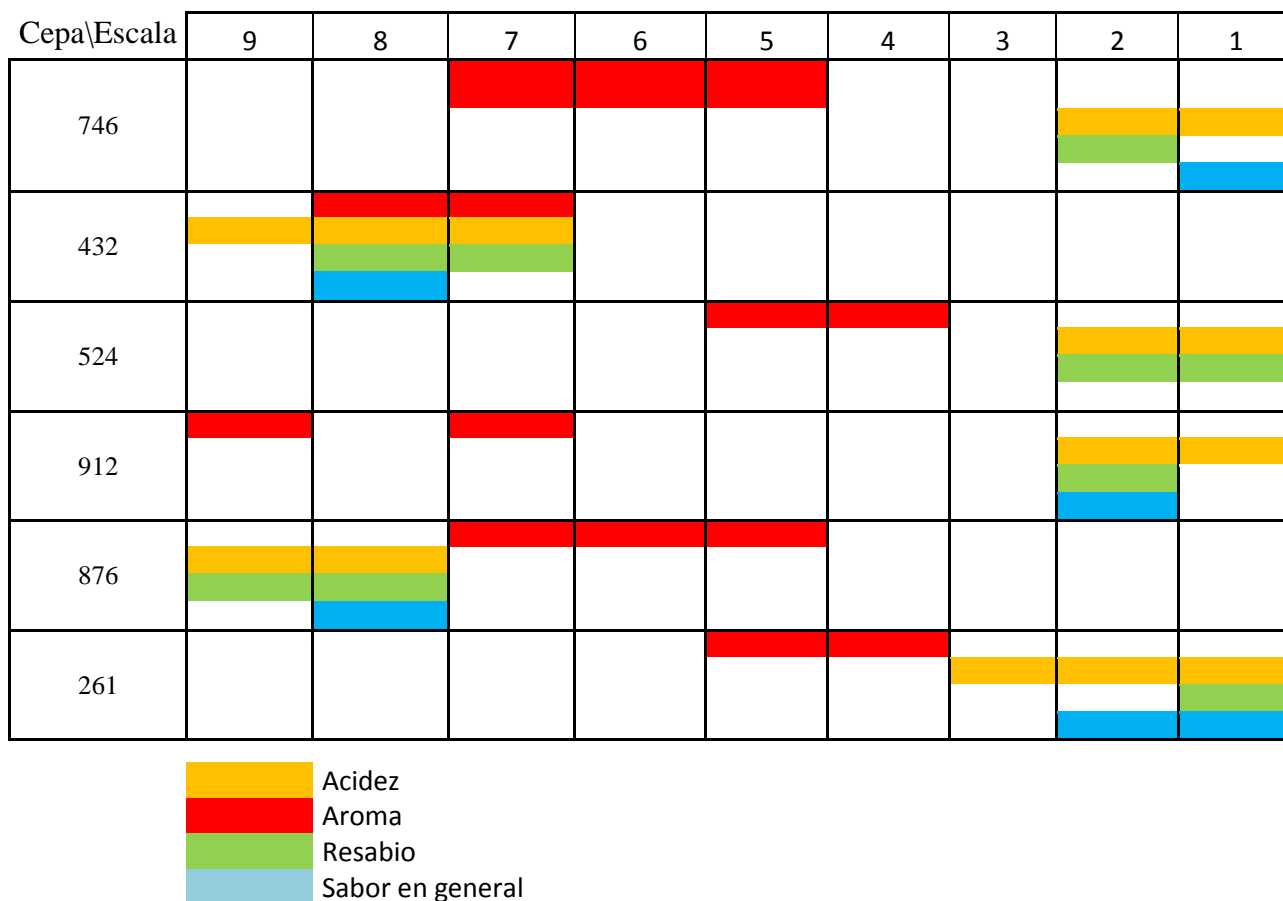
Las líneas abarcan a aquellas muestras que no tienen diferencias significativas entre sí, así se pudo observar que se formaron 4 grupos, siendo la muestra 261 la más diferente. Los resultados muestran que no todas las cepas de BAL confieren al producto el mismo perfil de sabor ácido, por lo que la evaluación sensorial fue de suma importancia.

Los panes ácidos tienen un proceso de fermentación afectados por una microflora compleja de levaduras y ácido láctico producido por bacterias específicas que le confieren características de sabor (De Vuyst Neysens, 2005).

Con la prueba de Ranking se confirmó que existe una diferencia perceptible en los prototipos en el atributo acidez.

Después se evaluó el nivel de agrado de aroma, acidez, resabio y sabor en general, los resultados se muestran en la figura 14, donde se grafican con colores los diferentes atributos evaluados donde 1 es me disgusta muchísimo y 9 es me gusta muchísimo.



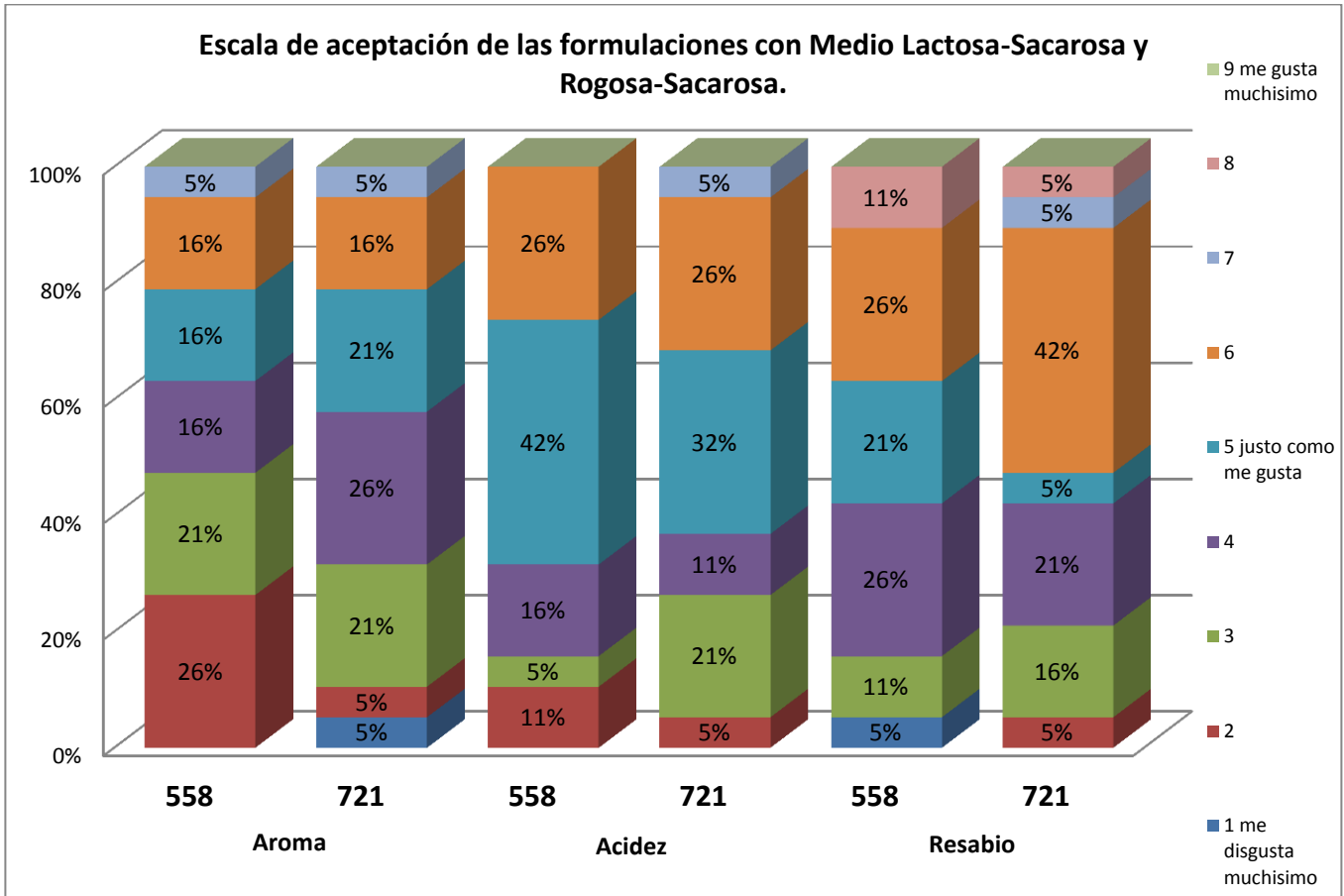


**Figura 14. Escala de agrado para las formulaciones con diferentes cepas de BAL.**

Los códigos seleccionados fueron 432 y 876 que corresponden a las cepas de BAL 6M y 382, en los comentarios expresados en la mesa redonda, el panel refirió que estas cepas dan un sabor lácteo y ácido agradable y se pudo ver reflejado en el puntaje obtenido por los prototipos, pues tuvieron mayores menciones positivas. Aunque de acuerdo al análisis de diferencias significativas la 912 podría desempeñar de igual manera que las antes mencionadas, los resultados descriptivos del panel no fueron buenos en el atributo de acidez, por esa razón no se prosiguió en su evaluación.

### 3.2.3 Selección de medio de crecimiento.

A continuación en la figura 15 se presentan los gráficos que representan el gusto de los consumidores por las formulaciones, 558 es la muestra preparada con medio Leche-Sacarosa y la 721 para la muestra de producto de panificación formulada con medio de crecimiento Rogosa-Sacarosa.



**Figura 15. Gráfico que muestra los resultados de aceptación de las formulaciones de pan con medio Rogosa-Sacarosa y Leche-Sacarosa manteniendo constante la cepa de Lactobacilo.**

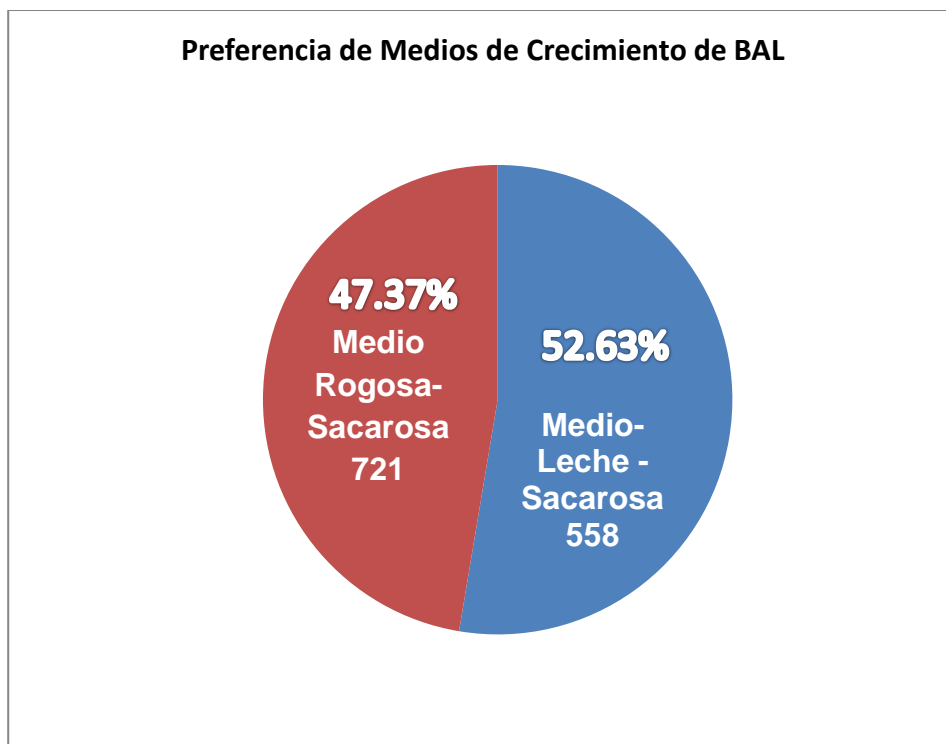
Estos datos nos permitieron conocer si el perfil sensorial era el adecuado para el consumidor respecto a atributos específicos.

La acidez y el resabio evaluados en el estudio fueron mejores en la muestra 558 que en la 721.

En acidez en la muestra 558 obtuvo el mayor porcentaje en el valor justo como me gusta, sumándose con las menciones positivas dan el 68% de gusto por el atributo. Esto significa que el medio Leche-Sacarosa permite que el sabor ácido se desarrolle de mejor forma en el pan. Los productos metabólicos primarios de las BAL son los ácidos L-láctico y acético con menores cantidades de ácido cítrico y málico, la proporción de los primeros es importante para la producción del sabor (Javanainen et. al., 1997); la presencia de lactosa del medio Leche-Sacarosa favorece el proceso.

El resabio para la 558 tuvo resultados más consistentes, el gusto está repartido entre justo como me gusta y escalas positivas, en la 721 se puede observar un gusto polarizado, ya que en justo como me gusta las menciones son menos que en puntos más altos de la escala y está más castigado en la escala negativa hacia me disgusta y me disgusta mucho.

Dentro de la misma evaluación se pidió a los consumidores que colocaran las muestras en primero o segundo lugar de acuerdo a la preferencia. Los resultados se muestran en la figura 16.



**Figura 16. Resultados prueba de preferencia para los medios de crecimiento Leche-Sacarosa y Rogosa-Sacarosa.**

De acuerdo a las evaluaciones sensoriales realizadas, el medio que no modificó el perfil sensorial del producto y es preferido por el consumidor es el Medio Leche-Sacarosa.

Algunos consumidores manifestaron en comentarios abiertos que la fórmula 721, correspondiente al elaborado con el Medio Rogosa-Sacarosa, no desarrollaba un sabor indeseable en el producto pero sí dejaba un resabio característico que inclinaba la preferencia a la 558, es decir, la desarrollada con el medio de Leche-Sacarosa, siendo este el que acentuaba mejor el perfil lácteo del producto.

En el medio Leche-Sacarosa, la cantidad de carbohidratos aumenta pues la leche proporciona lactosa y glucosa al medio, permitiendo así la formación de diacetilo y acetaldehído como producto de la fermentación que son compuestos volátiles que aportan aroma y sabor (Rodríguez, J, 2006).

### 3.2.3.1 Crecimiento en el medio seleccionado.

Una vez determinado el medio Leche- Sacarosa como el preferido por el consumidor, se verificó el crecimiento de UFC de BAL en este contra las crecidas en medio Rogosa-Sacarosa, manteniendo constante la BAL, se utilizó la cepa 6M. Como resultado se obtuvieron las UFC/mL que se muestran en la tabla 8.

**Tabla 8. Resultados de crecimiento de Lactobacilo en Medio Leche-Sacarosa y Rogosa-Sacarosa.**

Cepa	Medio de Cultivo	
	Rogosa Sacarosa	Leche Sacarosa
6M	1x10 <sup>5</sup> UFC/mL	1x10 <sup>6</sup> UFC/mL

El medio es de gran importancia para el crecimiento de las bacterias Ácido Lácticas, en este caso se enriquecieron ambos medios con sacarosa que estimula tanto la levadura como a las bacterias Ácido Lácticas en el crecimiento y aumenta la producción de ácido acético (Gobbeti, 2005).

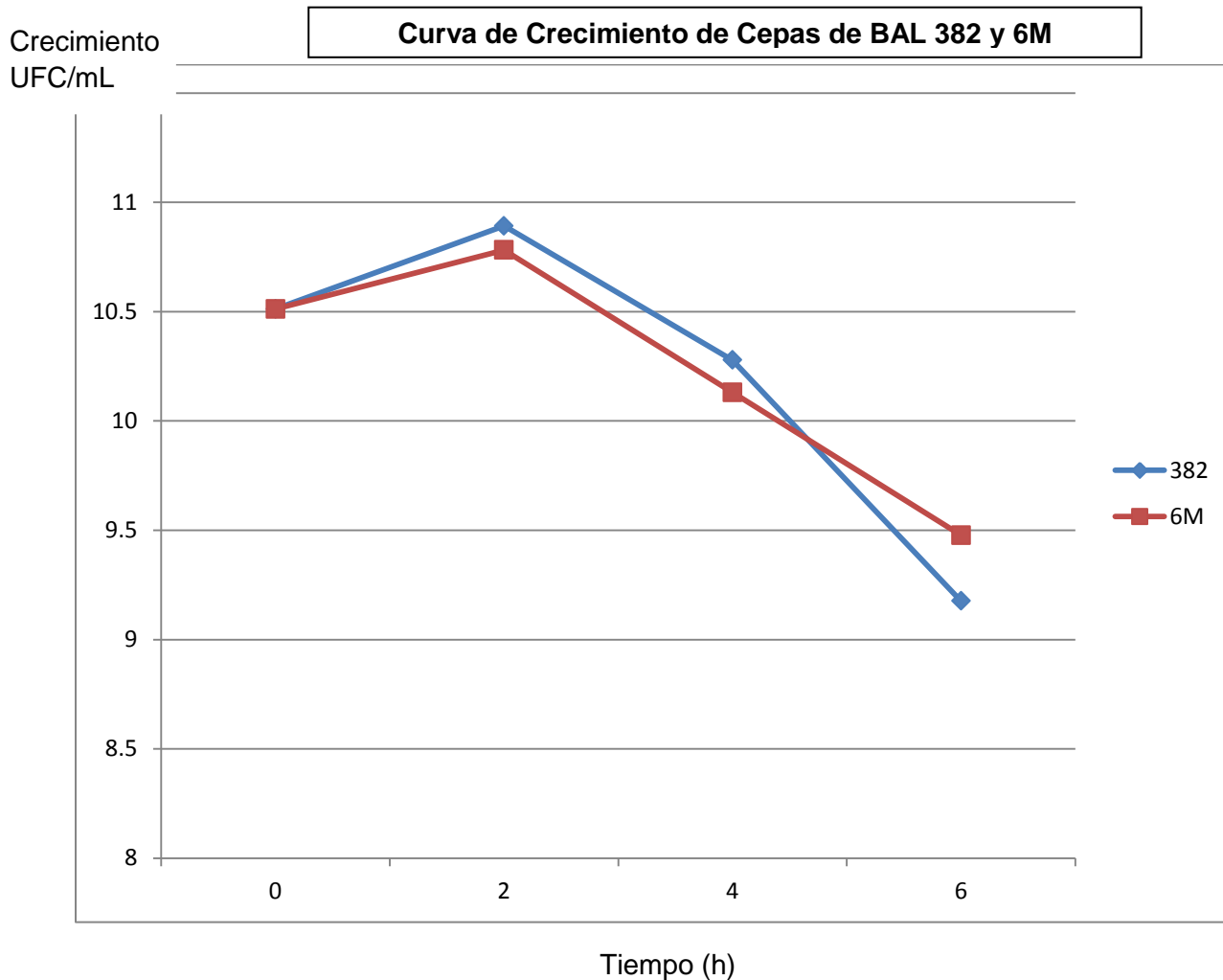
La hidrólisis de la sacarosa por la enzima invertasa, y la acción de las levaduras en la glucosa y la fructosa, que son los azúcares que componen la sacarosa, pueden aumentar el metabolismo de las BAL (Aksu et al., 1986), esto es porque las levaduras pueden hidrolizar la sacarosa cerca de 200 veces más rápido, liberando los monosacáridos por el agotamiento de la sacarosa acelerando así el proceso de fermentación de la masa (Martínez-Anaya, et al., 1996).

El medio Leche-sacarosa proporcionó un ambiente propicio para el crecimiento de BAL pues es rico en carbohidratos que son necesarios para su crecimiento. Este medio no solo benefició al perfil de sabor, también permitió su crecimiento en mayor número de UFC/ml.

Esta evaluación permitió conocer que tan eficiente sería el medio en el proceso, ya que, si en el medio Leche-Sacarosa el crecimiento de *Lactobacilos* hubiera sido menor que en medio Rogosa-Sacarosa se tendría que haber buscado alguna alternativa para favorecer el crecimiento de las BAL causando mayor complejidad al desarrollo del producto.

### 3.2.4 Selección la Bacteria Ácido Láctica respecto a la velocidad de crecimiento.

Para elegir BAL de acuerdo a la velocidad de reproducción se generaron las curvas de crecimiento de las bacterias Ácido Lácticas 6M y 382, que se muestran en la figura 17.



**Figura 17. Curva de crecimiento promedio vs. Tiempo para la cepa 6M y 382**

De acuerdo a la curva de crecimiento experimental se graficó el logaritmo de las UFC/ml contra el tiempo en horas, en donde la cepa 6M y 382 a las 2 horas de crecimiento en condiciones controladas de temperatura y agitación llegaron a la fase final de exponencial e inicio de la estacionaria. Las condiciones del medio favorecieron el crecimiento de ambas cepas por igual.

Para la cepa 6M se observó que la etapa de crecimiento ocurre dentro de las primeras dos horas, después comienza la etapa de muerte de manera gradual pues inicia el agotamiento de algunos nutrientes importantes en el medio para su desarrollo. En cuanto a la cepa 382, también se encontró en el mismo intervalo de tiempo su etapa de crecimiento, pero después inicia su muerte de manera más acelerada en comparación de la 6M.

El tiempo de la primera fermentación requerido para el desarrollo del producto de panificación fue de 2 horas, que fue el tiempo donde las cepas llegan a fase exponencial, esto fue una reducción considerable en el tiempo de proceso respecto a las 12h reportadas (León et al., 2006).

A continuación en la tabla 9 se muestran los resultados del crecimiento en UFC/mL para las dos cepas de Lactobacilos evaluadas con las curvas de crecimiento.

**Tabla 9. Resultados curva de crecimiento en UFC/mL.**

Tiempo (h)	Crecimiento 382 ( UFC/mL)	Crecimiento 6M ( UFC/mL)
0	10.51x10 <sup>7</sup>	10.51x10 <sup>7</sup>
2	10.89x10 <sup>7</sup>	10.78x10 <sup>7</sup>
4	10.28x10 <sup>7</sup>	10.13x10 <sup>7</sup>
6	9.18x10 <sup>7</sup>	9.47x10 <sup>7</sup>

Se observó que, como en las curvas, no hubo diferencia importante en el crecimiento; ambas cepas presentan números similares de UFC/ml en los mismo intervalos de tiempo por lo tanto la velocidad de crecimiento fue de 0.012 UFC/h para la cepa 382 y 6M.

### 3.2.4.1 Determinación de Acidez y pH durante la curva de crecimiento.

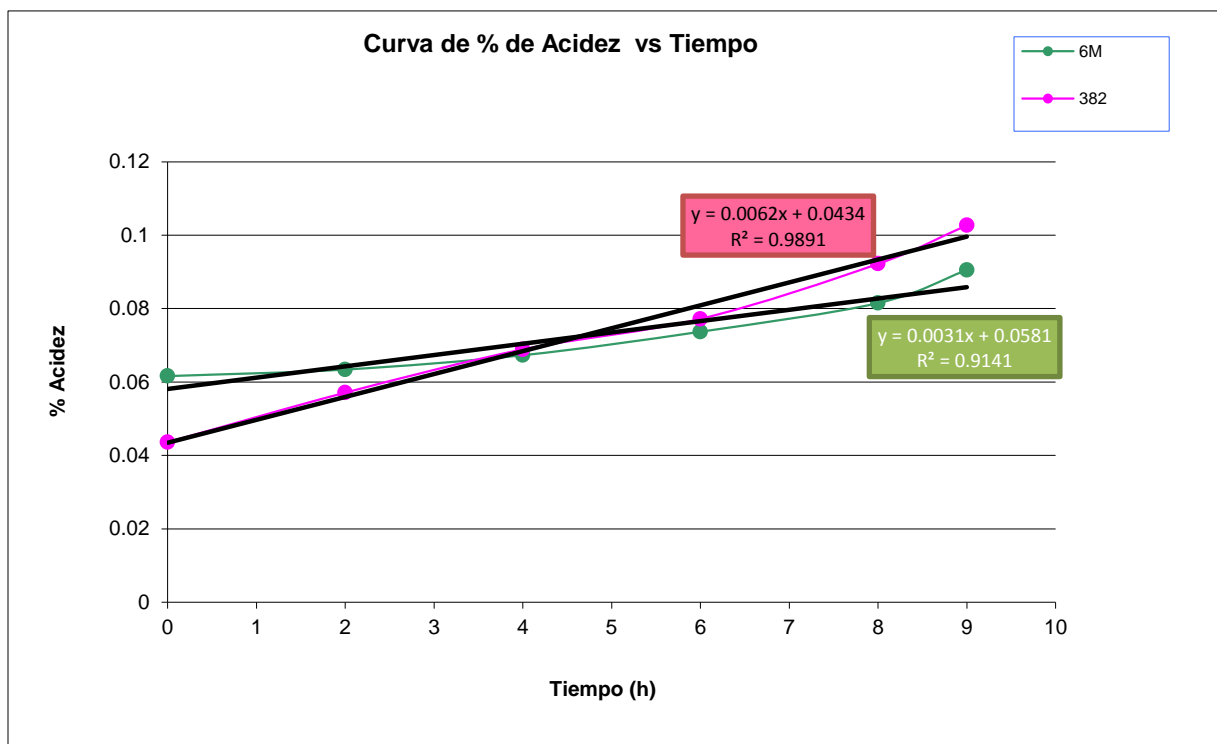
Tras realizar las curvas de crecimiento, se obtuvieron los siguientes resultados (tabla10) de acidez y pH de las distintas cepas evaluadas durante 9 horas, que fueron indicadores de la producción de ácido láctico de las cepas en el producto de panificación, estos resultados tomaron mayor importancia pues, ya que la velocidad de crecimiento es la misma en ambas cepas, se debió buscar otro criterio de selección.

**Tabla 10. Acidez y pH de las cepa 6M y 382.**

Tiempo	Horas (h)	6M		382	
		% Acidez	pH	% Acidez	pH
T <sub>0</sub>	0	0.0616	6.31	0.0436	6.81
T <sub>1</sub>	2	0.0634	6.24	0.0571	6.26
T <sub>2</sub>	4	0.0673	6.05	0.0689	6.05
T <sub>3</sub>	6	0.0737	5.75	0.0772	5.7
T <sub>4</sub>	8	0.0815	5.12	0.0922	5.45
T <sub>5</sub>	9	0.0905	5.05	0.1027	5.22

Se pudo ver como va aumentando la acidez en el tiempo, esto porque el numero de bacterias se incrementa por lo tanto se va generando mayor cantidad de ácido láctico.

A continuación en la figura 18 se muestra la curva de acidez de ambas cepas, en ella se observa el tiempo en el que convergen y el punto máximo de acidez desarrollada.

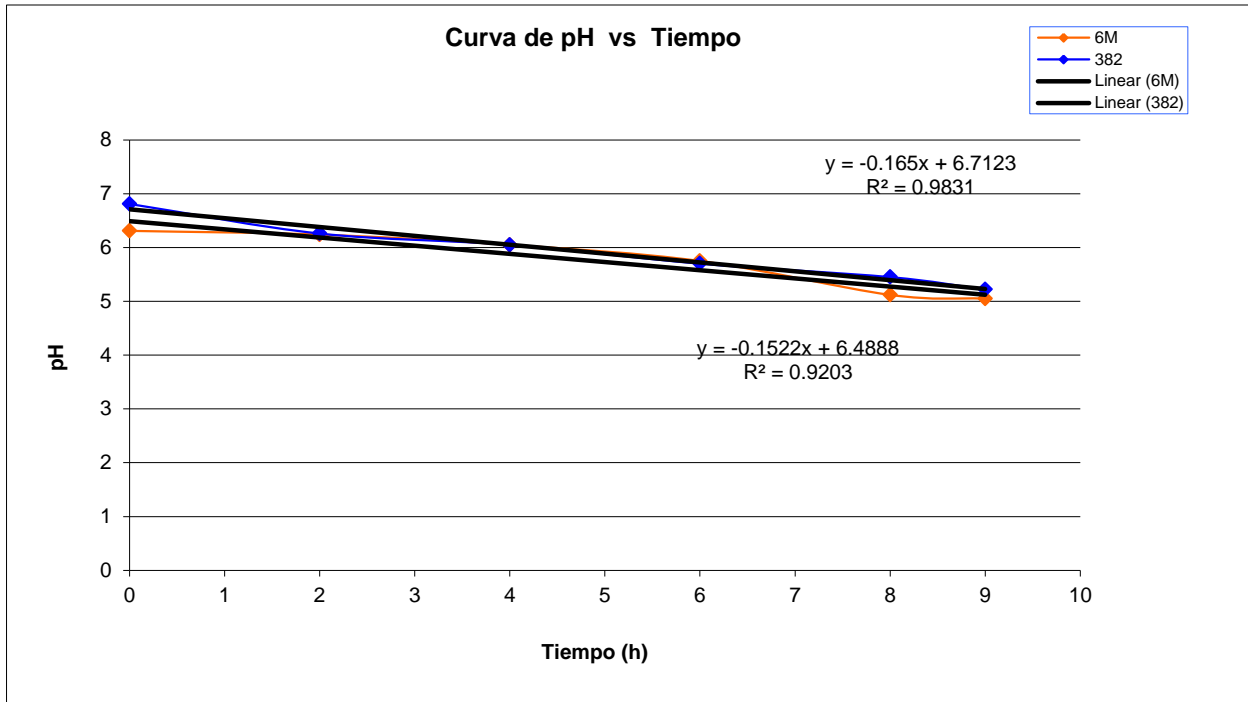


**Figura 18. Curva de % de Acidez vs. Tiempo para las cepas 6My 382.**

Se observó que a las dos horas, en la etapa de crecimiento, la cepa que produjo mayor % de acidez fue la cepa 6M. A las 4 horas ambas cepas produjeron la misma cantidad de ácido, aumentaron hasta 0.07%, si se compara la producción de ácido contra la curva de crecimiento (figura 17) se puede ver que a este intervalo de tiempo también las curvas se intersectan siendo congruente la producción de ácido con el crecimiento bacteriano.

Al final la cepa 382 fue la que produjo mayor acidez; en la etapa de muerte existe agotamiento de nutrientes y la acumulación de productos inhibitorios, en especial ácidos (Montoya, 2008). La acidez desarrollada frena la multiplicación de las BAL, lo cual es congruente con la curva de crecimiento ya que esta cepa tiene una fase de decadencia más acelerada. Esto sucede cuando se ha producido entre 0.06 y 0.09% de ácido láctico, si la acidez no frenara su crecimiento podrían convertir entre el 90 y 95% de lactosa en ácido láctico (Mestres, 2004)

En cuanto a la curva de pH, en la figura 19 se muestra como este va disminuyendo con el paso del tiempo.



**Figura 19. Curva de pH vs. Tiempo para la cepa 6M y 382**

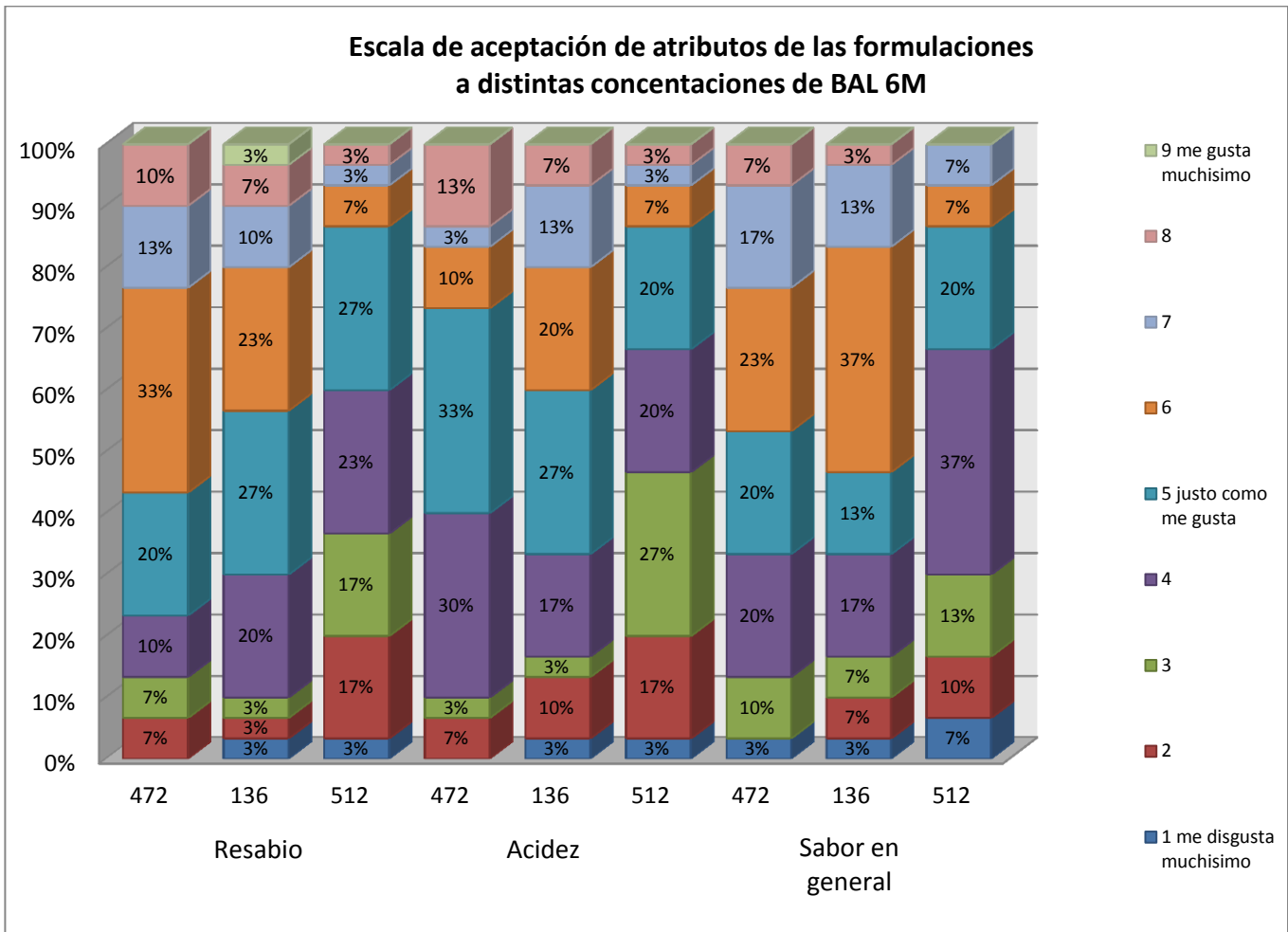
La mayoría de las bacterias crecen mejor en un rango de pH cercano a la neutralidad, entre 6 y 7, y muy pocas bacterias crecen en pH ácido (Tortora, G, 2007), el descenso de pH en ambas cepas fue causado por el incremento de acidez, conforme las BAL se acercan a la fase de muerte, el pH disminuye pues hay más ácido en el medio, siendo el viraje de pH un indicador de esta fase del crecimiento microbiano.

De acuerdo a los resultados se seleccionó a la bacteria Ácido Láctica 6M para la elaboración del producto de panificación acidificado por que fue la cepa que desarrollo mayor acidez a las 2 horas siendo el tiempo establecido para la primera fermentación.

### **3.2.5 Establecimiento de la formulación final modificando las concentraciones de BAL seleccionada.**

En la siguiente figura se muestran los resultados obtenidos para los atributos de resabio, acidez y sabor en general para las formulaciones con las diferentes concentraciones de BAL evaluadas 4mL (472), 8 mL (136) y 12mL (512).





**Figura 20. Escala de Agrado de las formulaciones con variación en la concentración de BAL.**

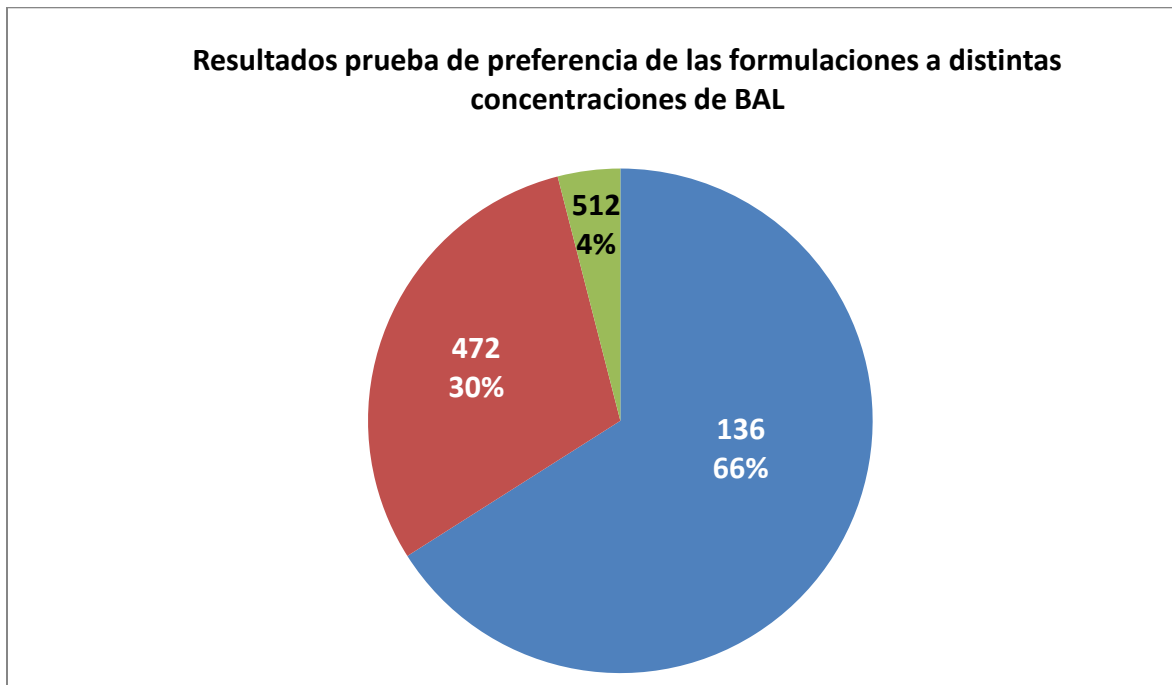
En cuanto al resabio la formula 136 tuvo mayor porcentaje de justo como le gusta al consumidor. La 472 fue la de menor cantidad de BAL pero alcanzó el mayor porcentaje en la escala positiva. La 512 tuvo mayoría en la escala negativa, el resabio, como se vio anteriormente fue un factor importante para la inclinación a la preferencia del producto. Las notas de lácteo fermentado que se percibieron no son del agrado del consumidor. Al aumentar la cantidad de BAL el agrado del resabio fue menor, marcándose así una tendencia en el comportamiento.

La acidez, el atributo de mayor interés, fue el perfil de sabor deseado en el producto, la formulación mejor evaluada fue la 136 dosificada con 8 ml de BAL, los consumidores evaluaron de manera positiva aunque no obtuvo las mayores puntuaciones en justo como me gusta. La 472 tuvo la acidez que el consumidor considera la adecuada. Nuevamente la 512 fue la peor evaluada, los resultados muestran que 12mL de BAL están sobre dosificados.

En sabor general las fórmulas 472 y 136 fueron bien evaluadas y se encontraron dentro del gusto de consumidor, por lo que ambas podrían funcionar en el mercado, incluso se puede decir que el sabor de pan de masa ácida fermentada es más agradable y más aromático que en pan

de trigo, un factor que puede atribuirse al tiempo de fermentación de la masa (Salim-ur-Rehman, et. al., 2006). La formulación 512 no fue opción ya que en todos los atributos evaluados tuvo las peores evaluaciones.

Los resultados de la prueba de preferencia para determinar la formulación final se muestran en la figura 21.



**Figura 21. Gráfico de preferencia de las formulaciones con variación en la concentración de BAL.**

La formulación que obtuvo la preferencia del consumidor fue la 136, la que contiene 4 mL de BAL, de acuerdo a los resultados esta tuvo un nivel de acidez aceptable y del agrado del consumidor, la fórmula en el análisis por atributos obtuvo buenos resultados por lo que no hay indicativo de que necesite algún ajuste de ingredientes.

En el desarrollo del producto se observó que aunque las levaduras tienen la función primaria de la fermentación, las bacterias Ácido Lácticas, producen importantes componentes de sabor y se están convirtiendo en productos de aceptación a los consumidores, que se van acercando hacia los productos de especialidad (De Vuyst y Neysens, 2005).

### **3.2.6 Determinación la propiedad de dureza en las formulaciones comparando contra un control sin BAL.**

La formulación que prefirió el consumidor fue la elaborada con 4mL de BAL, a pesar de eso se hicieron las pruebas de dureza en los otros dos niveles de BAL desarrollados, 8mL y 12 mL, para evaluar si al adicionarlas había una mejora en la dureza de la miga, pues se han reportado que las BAL producen exopolisacáridos capaces de mejorar la textura y la vida de

anaquel al favorecer la retención de agua, pudiendo reemplazar los aditivos como almidón, goma arábica y carrageninas (León et al., 2006).

Los resultados se muestran en la tabla 11, donde se muestran los valores de fuerza en  $\text{kg/cm}^2$  para cada uno de los niveles de variación de BAL y el control.

**Tabla 11. Resultados de la prueba de dureza.**

	Control $\text{Kg/cm}^2$	Prototipo 136 $\text{Kg/cm}^2$	Prototipo 472 $\text{Kg/cm}^2$	Prototipo 572 $\text{Kg/cm}^2$
1	0,17	0,27	0,18	0,08
2	0,10	0,13	0,15	0,11
3	0,07	0,12	0,16	0,11

Para el análisis estadístico de los datos se realizó una prueba de análisis de varianza.

### Hipótesis estadística

**Ho:**  $\mu_{\text{dureza1}} = \mu_{\text{dureza2}} = \mu_{\text{dureza3}}$

**H1:** al menos un par es diferente

El valor P es de 0.276 por lo tanto no existe diferencia significativa respecto a la propiedad de dureza en los tres niveles de variación de BAL evaluados en los panes (4ml, 8ml y 12 ml), por lo tanto se infirió que la producción de exopolisacáridos por las cepas empleadas no fue importante.

### 3.3 Resultados Objetivo Particular 3

Se generaron las especificaciones de envase, etiquetado y embalaje adecuadas al producto para su comercialización.

La norma de etiquetado tiene por objeto establecer la información comercial que debe contener el etiquetado de los alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados de fabricación nacional y extranjera, así como determinar las características de dicha información.

Se colocó en la etiqueta la información obligatoria:

- Nombre o denominación del alimento: **Pan de harina de trigo de fermentación ácido láctica.**

Se denominó el producto de panificación de acuerdo con las características de composición y naturaleza.

- Lista de ingredientes: **Ingredientes: Harina de trigo, Leche, sal, levadura y bacterias ácido lácticas.**

- **Alergenos: Contiene: Leche y Gluten.**

Para el etiquetado se colocó la palabra “Ingredientes”, pues es de carácter obligatorio, se listaron en orden cuantitativo decreciente.

Los alérgenos presentes deben ser declarados y remarcados en negritas, para que no exista ingestión por error.

- Contenido neto: **CONT. NET. 350g**

Esta fue la porción que se decidió era la indicada para su distribución, esto porque los panes gourmet son de especialidad y el consumo en muchos casos puede ser ocasional.

- Nombre y domicilio fiscal: **Karma Alimentos de México, S. de R.L. de C.V., H. Michoacán No. 337, Col. Chalma de Guadalupe, C.P. 07210, México, D.F.**
- País de origen: **Hecho en México**

Se colocó de esta manera en la etiqueta pero pueden ocuparse otras como: "Producto de...", "Fabricado en..." seguida del país de origen del producto.

- Identificación del lote y fecha de caducidad: **Para el producto desarrollado se colocó la fecha de caducidad como identificación del lote. Dándole al producto una vida de anaquel de 2 semanas.**

La información que de acuerdo a la Norma puede ser voluntaria es la nutrimental, solo debe ser obligatoria cuando se realice la declaración en forma cuantitativa o cualitativa de alguna propiedad nutrimental.

En el caso del producto de panificación sí se incluyó la información nutrimental con la finalidad de proporcionar mayor información al consumidor, esta se calculó tomando valores teóricos de los nutrimentos presentes en los ingredientes que lo conforman.

En la tabla 12 se muestra la información de etiquetado respecto al aporte nutrimental del producto de panificación saborizado con bacterias Ácido Lácticas.

Al decidir colocar la información nutrimental en el etiquetado, la norma indica que de manera obligatoria se debe declarar el contenido energético, las cantidades de proteínas, carbohidratos, grasas, sodio y la cantidad de cualquier otro nutrimento acerca del cual se haga una declaración de propiedades.

La información se colocó por porción cubriendo la información obligatoria y además de información complementaria.

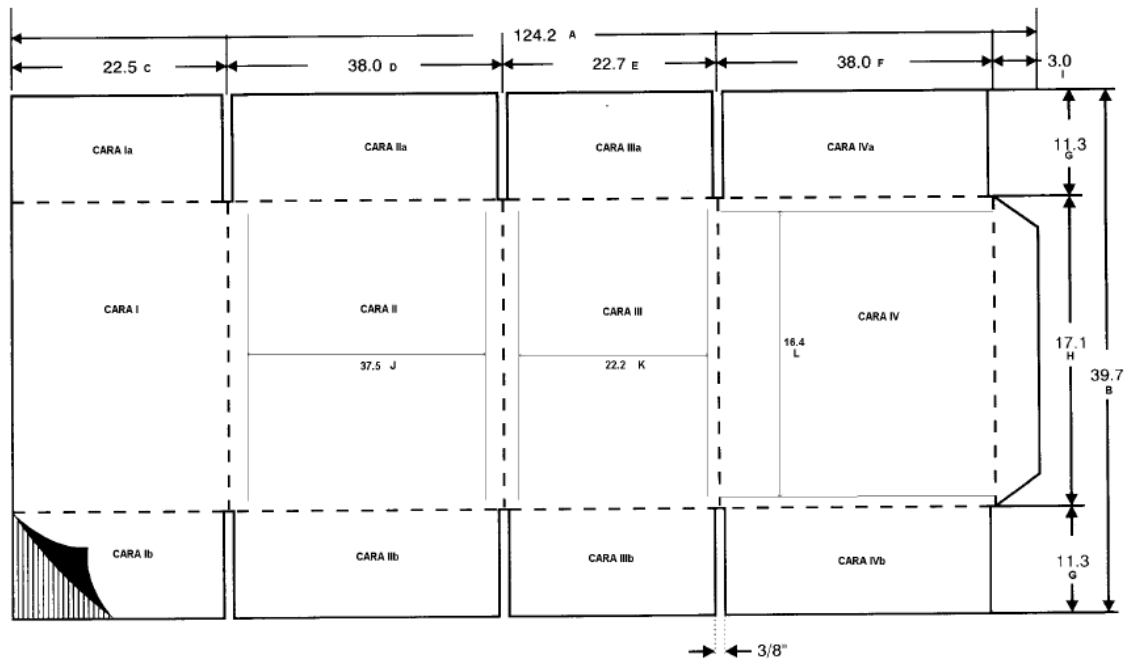
**Tabla 12. Información Nutricional del Producto de Panificación saborizado con BAL.**

INFORMACIÓN NUTRIMENTAL	
Tamaño de la porción: una rebanada de 30g	
Número de porciones: 11,6	
Cantidad por porción	
Contenido Energético	347 kJ (79 kcal)
Proteínas	3,1 g
Grasas (lípidos)	0,8 g
de las cuales:	
Grasa Saturada	0.2g
Carbohidratos (hidratos de carbono)	15 g
de los cuales:	
Fibra dietética	0g
Azúcares	2,3 g
Sodio	0,3 mg

Se desarrollaron especificaciones de envase y embalaje, de materiales que permitieran la conservación del producto en condiciones óptimas de calidad.

Se eligió una caja de papel con ventana, que además de proteger el producto funciona como exhibición en punto de venta.

El material seleccionado fue papel Kraft para dar la impresión de rústico para reforzar el concepto gourmet del producto. En la figura se muestra una simulación del plano mecánico para el diseño de la caja, en el se ven medidas y puntos de doblez; también se muestra el concepto de caja con ventana.



**Figura 22. Simulación de plano mecánico de empaque y caja armada.**

Se diseñó teniendo en cuenta que los materiales y tintas de impresión deben ser grado alimenticio pues muchas pueden ser tóxicas. El envase y embalaje de los productos es importante pues los alimentos pueden sufrir distintas formas de daño físico: vibración, goteo, estrujamiento y aplastamiento.

## **4. Conclusiones**

## **4. CONCLUSIONES,**

- Los productos de panificación son un alimento común en la dieta de los mexicanos.
- El pan acidificado es producto innovador, con un sabor diferente a los demás panes gourmet.
- A pesar de la baja presencia de productos gourmet en México, los consumidores están dispuestos a probar nuevos productos y el pan saborizado con bacterias Ácido Lácticas les parece atractivo.
- El consumidor está interesado en conocer más acerca de los productos, la falta de información respecto a los ingredientes, modo de fabricación y beneficios tienen un impacto negativo en la intención de compra.
- Los consumidores no tienen presente alguna marca de pan gourmet, lo que beneficia al producto desarrollado pues es un mercado poco explotado.
- No todas las cepas de bacterias Ácido Lácticas producen un perfil de sabor agradable en el producto.
- La cepa 6M y 382 fueron las que mejor desarrollaron el perfil de sabor ácido al evaluarse en medio Rogosa-Sacarosa y Leche-Sacarosa.
- Al evaluarse sensorialmente los medios de crecimiento, el que aporta mejor sabor al producto de panificación desarrollado fue el de Leche-Sacarosa.
- Además de conferir el perfil de sabor más agradable al consumidor, el medio Leche-Sacarosa presentó mejores condiciones para el crecimiento de la cepa 6M pues hay mayor formación de colonias que en el medio Rogosa-Sacarosa.
- Se optimizó el proceso; de acuerdo a la curva de crecimiento, a las 2 horas la cepa 6M y 382 llegan a la fase exponencial, con esto se definió el tiempo necesario para la primera fermentación mejorándose contra el reportado de 12 horas.
- La cepa 6M y 382 tienen una velocidad de crecimiento de 0.012 UFC/h.
- Se seleccionó a la cepa 6M para el proceso, pues fue la que produjo mayor acidez a las 2 horas de crecimiento.



- El pH es un indicativo de la muerte microbiana, pues decrece al tiempo en que las bacterias se encuentran en fase de decadencia.
- Las concentraciones de BAL 6M mejor evaluadas en la escala de agrado por el consumidor fueron la de 4mL y 8mL, la peor la de 12mL.
- La formulación final, al ser la preferida por el consumidor, fue la de la cepa 6M crecida en medio Leche- Sacarosa en una concentración de 4mL.
- No se encontró mejora en el atributo de dureza en ninguna de las variaciones de las concentraciones de BAL 6M comparada contra el control sin BAL.
- El producto cumple con la norma mexicana vigente de etiquetado NOM 051-SCFI-1994.
- El empaque tiene una doble función proteger y exhibición, pues la presentación del producto al consumidor está directamente relacionado con la intención de compra.

## Bibliografía:

- Aguado, A. (2003). *Ingeniería de la Industria Alimentaria Vol.1. Conceptos básicos*. Ed. Síntesis, España. 132-147
- Agueda, E, Martin-Consuegra, D, Millán, A, Molina, A. (2002). *Introducción al marketing*. Ed. Ariel. España. 103-167
- Aksu, Z, Kutsal, T. (1986), *Lactic Acid production from molasses utilizing Lactobacillus delbrueckii and invertase together*. *Biotechnology Letters* **8**, 157-160.
- Aleixandre, J. (1999). *Industrias agroalimentarias*. Ed. U.P.V. España. 98-115
- Aleixandre, J. (1996). *Procesos de Elaboración de Alimentos*. Ed. U.P.V, España. 46-78
- Axelsson L. *Lactic acid bacteria: Classification and physiology*. En: Salmminen S, Von Wright A, Ouwenhand A, (2004). *Lactic acid bacteria, microbiology and functional aspects*. Marcel Decker. E.U.A. 1-66.
- Barber, S, Barber, C, Planells, V. (1983). *La masa madre panaria: su influencia sobre las características reológicas y fermentativas de la masa de harinas panificables*. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*. **4**, 403-411
- Best, D. (2001). *Bakery products fight staling*. *Prepared foods*. **10**, 67-70.
- Bourgeois, C. (1995). *Microbiología Alimentaria II: Fermentaciones Alimentarias*. Ed. Acribia, España. 67-79
- Calaveras, J. (2004). *Tratado de Panificación y bollería*. Ed AMV. España. 420-470
- Calvel, R. (1994). *El sabor del Pan*. Ed. Montagud. España. 56-63
- Camacho, F. (2003). *Evolución del Consumo en México*. *Revista de la Facultad De Economía-BUAP*. **8**, 23.
- Decock, P. (2005). *Bread technology and sourdough technology*. *Trends in Food Science and Technology*. **16**, 113-120.
- De Vos, W. (2004). *Engineering metabolic highways is Lactococci and other lactic acid bacteria*. *Trends in Biotechnology*. **22**, 72-79.
- De Vuyst, L, Neysens, P. (2005). *The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions*. *Trends in Food Science Technology*. **16**, 43-50.
- Frazier, W. (1985). *Microbiología de Alimentos*. Ed. McGraw-Hill, España. 347-356

- Fellows, P. (1993). *Tecnología del procesado de Alimentos: Principios y Prácticas*. Ed. Acribia. España. 387-429
- Galindo, A. (2001). *Psicología del consumidor mexicano. Segmento ITAM*
- Gobbetti, A. (2005). *Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. Trends in Food Science & Technology. 1-3*, 57-69.
- INEGI (2003). Producción y ventas netas de los establecimientos manufactureros por clase de actividad, familia y productos elaborados.
- Javanainen, P, Linko, Y, Linko, S. (1997). *Biotechnology of bread baking. Trends in Food Science and Technology. 8*, 339-344.
- Kotler, P. (1996). *Dirección de Mercadotecnia, Análisis, Planeación, Implementación, y Control*. Ed. Prentice Hall Hispanoamericana. México. 125-202
- León A, Montoya, O, Motato K. (2006). *Bacterias ácido lácticas (BAL) silvestres colombianas presentan propiedades adecuadas para la fabricación de masa ácida. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica.13*, 26-35.
- Madigan, L, Martinko, J, Parker, J. (2004). *Brock, Biología de los microorganismos*. Ed. Prentice Hall Iberia. España. 835-837
- Martinez- Anaya, M, Rouzaud, O. (1996), *influence of flour, bacterial starter and breadmaking sateges on total starch, sugars and low-molecular-weight dextrans. Food Science and Technology International. 2*, 35-45
- Meignen, B, Onno B, Gelines P, Infantes M, Guilois S, Cahagnier. (2001) *Optimization of sourdough fermentation with lactobacillus brevis and baker's yeast. Food Microbiology.18*, 239-245.
- Mestre, J, (2004). *Productos Lacteos: Tecnología*. Ed. UPC, España. 96-97
- Mohd, Z, (2008), *Quality Evaluation of Bakery Products, Food Engeenering. 20*, 481-520.
- Mondal. A. (2008), *Bread Baking- A review. Journal of food Engineering. 86*, 465-474
- Montoya. H. (2008). *Microbiología básica*. Ed. Universidad de Antioquia. Colombia. 94
- Mozzi, F, Raya, R, Vignolo, G. (2008). *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications*, Ed. John Wiley and Sons. E.U.A. 134-135.

- NOM-147-SSA1-1996, Bienes y Servicios. Cereales y sus Productos. Harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de cereales, de semillas comestibles, harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales
- NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.
- Quaglia, G (1991). *Ciencia y Tecnología de la panificación*. Ed. Acribia. España.
- Rodríguez, J, (2006). *Microorganismos y Salud. Bacterias Lácticas y bifidobacterias probióticas*. Ed. Complutense. España. pp. 32.
- Salim-ur-Rehman, A, Paterson, A, Piggott, J. (2006). *Flavour in sourdough breads: a review. Trends in Food Science and Technology*. **17**, 557-566.
- Sancho, J, Bota, E, Castro, J (1999). *Introducción al Análisis Sensorial de los Alimentos*. Ed. Universidad de Barcelona. España. P 119.
- Souci, S, Fachmann, W, Kraut, H. (2006). *Food Composition and Nutrition tables*. Ed. Medpharm Scientific Publishers. 305-308
- Stampfli, L, Nersten, B. (1995). *Emulsifiers in bread making. Food Chemistry*. **6**, 353-360
- Topisirovic, L. (2006). *Potential of lactic bacteria isolated from specific natural niches in food production and preservation. International Journal of Food Microbiology*.
- Tortora, G. (2007). *Introducción a la Microbiología*. Ed. Panamericana. España. 162.
- Weilbacher, W. (1999), *El marketing de la marca*. Ed. Granica. Barcelona. 45-96

# Apéndice

## ESTUDIO DE MERCADO “DESARROLLO DE UN PRODUCTO DE PANIFICACIÓN”

**Sexo:** Masculino \_\_\_\_\_ Femenino \_\_\_\_\_

**Edad:** 18-20 años \_\_\_\_\_ 20-25 años \_\_\_\_\_ > 25 años \_\_\_\_\_

1. ¿Comes productos de panificación?

\_\_\_\_ Si  
\_\_\_\_ No

2. ¿Con qué frecuencia los consumes?

\_\_\_\_ > de 2 veces al día  
\_\_\_\_ 2 veces al día  
\_\_\_\_ 1 vez al día  
\_\_\_\_ 3 veces a la semana  
\_\_\_\_ 1 vez a la semana

3. ¿Qué tipo de pan es el que consumes?

\_\_\_\_ Dulce  
\_\_\_\_ De caja  
\_\_\_\_ Bolillo  
\_\_\_\_ Repostería

4. ¿Dónde compras el pan?

\_\_\_\_ Tienda (Bimbo, Tía Rosa, Don Toño)  
\_\_\_\_ Expendio de pan  
\_\_\_\_ Panaderías de prestigio (Globo, Lecaroz, Aranzazu, El Molino)

5. ¿Alguna vez has probado el pan gourmet?

\_\_\_\_ Si  
\_\_\_\_ No

6. Si no lo has probado, ¿Cuáles son las razones?

\_\_\_\_ Precio elevado  
\_\_\_\_ Poco atractivo  
\_\_\_\_ No hay en todas partes  
\_\_\_\_ Otros \_\_\_\_\_

7. Si mejorara en uno de los aspectos que mencionaste en la pregunta anterior, ¿Lo comprarías?

\_\_\_\_ Si  
\_\_\_\_ No

8. ¿Conoces alguna marca de pan gourmet?

\_\_\_\_ Si  
\_\_\_\_ No

9. ¿Te gustaría probar sabores diferentes en los productos de panificación?

\_\_\_\_ Si  
\_\_\_\_ No

10. ¿Comprarías un pan saborizado naturalmente con *Lactobacilos*?

\_\_\_\_ Si  
\_\_\_\_ No

**Muchas gracias!!!**



## Formato de evaluación sensorial de los panes con Lactobacilos crecidos en dos medios de cultivo, evaluados por Pruebas Sensoriales

**Sexo:** Masculino \_\_\_\_\_ Femenino \_\_\_\_\_

**Edad:** 18-20 años \_\_\_\_\_ 20-25 años \_\_\_\_\_ > 25 años \_\_\_\_\_

**Instrucciones.** Por favor, prueba la muestra e indica con una "X" su nivel de agrado

1. De acuerdo al aroma de la muestra:

	721	432	524	912	876	261
gusta muchísimo	_____	_____	_____	_____	_____	_____
gusta mucho	_____	_____	_____	_____	_____	_____
gusta moderadamente	_____	_____	_____	_____	_____	_____
gusta un poco	_____	_____	_____	_____	_____	_____
justo como me gusta	_____	_____	_____	_____	_____	_____
disgusta un poco	_____	_____	_____	_____	_____	_____
disgusta moderadamente	_____	_____	_____	_____	_____	_____
disgusta mucho	_____	_____	_____	_____	_____	_____
disgusta muchísimo	_____	_____	_____	_____	_____	_____

2. Respecto a la acidez:

	721	432	524	912	876	261
gusta muchísimo	_____	_____	_____	_____	_____	_____
gusta mucho	_____	_____	_____	_____	_____	_____
gusta moderadamente	_____	_____	_____	_____	_____	_____
gusta un poco	_____	_____	_____	_____	_____	_____
justo como me gusta	_____	_____	_____	_____	_____	_____
disgusta un poco	_____	_____	_____	_____	_____	_____
disgusta moderadamente	_____	_____	_____	_____	_____	_____
disgusta mucho	_____	_____	_____	_____	_____	_____
disgusta muchísimo	_____	_____	_____	_____	_____	_____

4. En cuanto al sabor que te deja en la boca:

	721	432	524	912	876	261
gusta muchísimo	_____	_____	_____	_____	_____	_____
gusta mucho	_____	_____	_____	_____	_____	_____
gusta moderadamente	_____	_____	_____	_____	_____	_____
gusta un poco	_____	_____	_____	_____	_____	_____
justo como me gusta	_____	_____	_____	_____	_____	_____
disgusta un poco	_____	_____	_____	_____	_____	_____
disgusta moderadamente	_____	_____	_____	_____	_____	_____
disgusta mucho	_____	_____	_____	_____	_____	_____
disgusta muchísimo	_____	_____	_____	_____	_____	_____

5. En general:

	721	432	524	912	876	261
gusta muchísimo	_____	_____	_____	_____	_____	_____
gusta mucho	_____	_____	_____	_____	_____	_____
gusta moderadamente	_____	_____	_____	_____	_____	_____
gusta un poco	_____	_____	_____	_____	_____	_____
justo como me gusta	_____	_____	_____	_____	_____	_____
disgusta un poco	_____	_____	_____	_____	_____	_____
disgusta moderadamente	_____	_____	_____	_____	_____	_____
disgusta mucho	_____	_____	_____	_____	_____	_____
disgusta muchísimo	_____	_____	_____	_____	_____	_____

6. Ordena del 1 al 6 las muestras que más te hayan agradado en acidez.

1 \_\_\_\_\_ 2 \_\_\_\_\_ 3 \_\_\_\_\_ 4 \_\_\_\_\_ 5 \_\_\_\_\_ 6 \_\_\_\_\_

## Formato de evaluación sensorial de los panes con BAL, para definir el medio Rogosa Sacarosa y Leche Sacarosa de mejor desempeño Sensorial

**Sexo:** Masculino \_\_\_\_\_ Femenino \_\_\_\_\_

**Edad:** 18-20 años \_\_\_\_\_ 20-25 años \_\_\_\_\_ > 25 años \_\_\_\_\_

**Instrucciones.** Por favor, prueba la muestra e indica con una "X" su nivel de agrado

1. De acuerdo a la acidez de la muestra:

	558	721
gusta muchísimo	_____	_____
gusta mucho	_____	_____
gusta moderadamente	_____	_____
gusta un poco	_____	_____
justo como me gusta	_____	_____
disgusta un poco	_____	_____
disgusta moderadamente	_____	_____
disgusta mucho	_____	_____
disgusta muchísimo	_____	_____


2. En cuanto al sabor que te deja en la boca:

	558	721
gusta muchísimo	_____	_____
gusta mucho	_____	_____
gusta moderadamente	_____	_____
gusta un poco	_____	_____
justo como me gusta	_____	_____
disgusta un poco	_____	_____
disgusta moderadamente	_____	_____
disgusta mucho	_____	_____
disgusta muchísimo	_____	_____

3. En general:

	558	721
gusta muchísimo	_____	_____
gusta mucho	_____	_____
gusta moderadamente	_____	_____
gusta un poco	_____	_____
justo como me gusta	_____	_____
disgusta un poco	_____	_____
disgusta moderadamente	_____	_____
disgusta mucho	_____	_____
disgusta muchísimo	_____	_____

4. Que muestra fue tu preferida: \_\_\_\_\_

Muchas gracias!!! 

## Formato de evaluación sensorial de pan con *Lactobacilos* a diferentes concentraciones de cultivo, evaluados por pruebas Sensoriales.

**Sexo:** Masculino \_\_\_\_\_ Femenino \_\_\_\_\_

**Edad:** 18-20 años \_\_\_\_\_ 20-25 años \_\_\_\_\_ > 25 años \_\_\_\_\_

**Instrucciones.** Por favor, prueba la muestra e indica con una "X" su nivel de agrado

1. De acuerdo a la acidez de la muestra:

	136	472	512
gusta muchísimo	_____	_____	_____
gusta mucho	_____	_____	_____
gusta moderadamente	_____	_____	_____
gusta un poco	_____	_____	_____
justo como me gusta	_____	_____	_____
disgusta un poco	_____	_____	_____
disgusta moderadamente	_____	_____	_____
disgusta mucho	_____	_____	_____
disgusta muchísimo	_____	_____	_____


2. En cuanto al sabor que te deja en la boca:

	136	472	512
gusta muchísimo	_____	_____	_____
gusta mucho	_____	_____	_____
gusta moderadamente	_____	_____	_____
gusta un poco	_____	_____	_____
justo como me gusta	_____	_____	_____
disgusta un poco	_____	_____	_____
disgusta moderadamente	_____	_____	_____
disgusta mucho	_____	_____	_____
disgusta muchísimo	_____	_____	_____

3. En general:

	136	472	512
gusta muchísimo	_____	_____	_____
gusta mucho	_____	_____	_____
gusta moderadamente	_____	_____	_____
gusta un poco	_____	_____	_____
justo como me gusta	_____	_____	_____
disgusta un poco	_____	_____	_____
disgusta moderadamente	_____	_____	_____
disgusta mucho	_____	_____	_____
disgusta muchísimo	_____	_____	_____

4. ¿Qué muestra fue tu preferida? \_\_\_\_\_

Muchas gracias!!! 



## **Metodología de preparación de cultivos**

### **Cultivo MRS sacarosa**

#### **Material:**

- ✓ Agua Destilada
- ✓ Ácido ascórbico
- ✓ Extracto de levadura
- ✓ Extracto de carne
- ✓ Peptona de soya
- ✓ Acetato de sodio
- ✓ Polipeptona
- ✓ Sacarosa

#### **Procedimiento:**

1. Se pesó cada uno de los reactivos en la balanza digital y se colocaron en un matraz con el agua destilada.
2. Se agitó el matraz que contenía todos los reactivos. Se llevaron al potenciómetro hasta a un pH de 6.8 que es el indicado para ese medio.
3. Una vez mezclados y alcanzado el pH se vació el medio de cultivo en tubos de ensayo a 4.5 ml.
4. Se esterilizó el medio de cultivo a 15 libras por 15 minutos.

### **Cultivo Leche sacarosa**

#### **Material:**

- ✓ Leche en polvo fortificada
- ✓ Peptona de soya
- ✓ Extracto de lavadura
- ✓ Sacarosa

#### **Procedimiento:**

1. Se pesó cada uno de los reactivos en la balanza digital y se colocaron en un matraz con el agua destilada.
2. Se agitó el matraz que con todos los reactivos.
3. Una vez mezclados los reactivos, se vació el medio de cultivo en tubos de ensayo a 4.5 ml.
4. Se esterilizó el medio de cultivo a 10 libras por 10 minutos.

## Metodología de Inoculación de Lactobacilos

### Material:

- ✓ *Lactobacilos* en tubos eppendorff
- ✓ 1 propipeta 100 µl
- ✓ 1 mechero Bunsen
- ✓ Puntas estériles 100 µl

### Procedimiento:

1. En medio estéril, se tomó con ayuda de la propipeta 100µl de *Lactobacilos* y se colocaron en cada uno de los tubos de ensayo con el medio de cultivo seleccionado, esto se realizó para cada uno de los *Lactobacilos* elegidos.

## Determinación del crecimiento de Lactobacilo en medio Leche sacarosa y Rogosa-Sacarosa por goteo. Miles y Misra.

### Material:

- ✓ Inóculo de *Lactobacilo* en matraz de 100 ml con medio de cultivo MRS o Leche-Sacarosa
- ✓ 1 matraz de 600 ml con medio de cultivo estéril
- ✓ 1 Probeta de 100 ml
- ✓ 2 mecheros Bunsen
- ✓ Puntas estériles 100 µl
- ✓ Puntas estériles 500 µl
- ✓ Propipeta de 500 µl
- ✓ 40 tubos con solución salina al % estériles
- ✓ 15 medios de cultivo agar rogosa en caja petri

### Procedimiento:

1. Se agregará el inóculo de *Lactobacilo* en el medio de cultivo en área estéril, se agita manualmente.
2. Se tomará 500 µl de éste con la propipeta para vaciarla en el tubo de ensayo con la solución salina, todo esto en área estéril.
3. Una vez disuelto los 500 µl de medio con *Lactobacilo*, hacer diluciones de los tubos hasta  $10^{-6}$ , siempre agitando el tubo, para que la muestra de éste sea homogénea.
4. Una vez terminado esto, con ayuda de la propipeta, se sembrarán 100 µl de las tres últimas diluciones en cuatro regiones del medio de Agar en caja petri, cada dilución en una caja petri.

## Metodología Curva de crecimiento del *Lactobacilo* 6M y 382

### Material:

- ✓ Inóculo de *Lactobacilo* en matraz de 100 ml con medio de cultivo MRS o leche
- ✓ 1 matraz de 600 ml con medio de cultivo estéril
- ✓ 1 Probeta de 100 ml
- ✓ 2 mecheros Bunsen
- ✓ Puntas estériles 100  $\mu$ l
- ✓ Puntas estériles 500  $\mu$ l
- ✓ Propipeta de 500  $\mu$ l
- ✓ 40 tubos con solución salina al % estériles
- ✓ 15 medios de cultivo agar rogosa en caja petri
- ✓ Agitador con temperatura

### Procedimiento:

5. Se agregará el inóculo de *Lactobacilo* en el medio de cultivo en área estéril, se agita manualmente.
6. Se tomará 30 ml de todo el medio vaciándose en la probeta flameándola y 500  $\mu$ l de éste con la propipeta para vaciarla en el tubo de ensayo con la solución salina, todo esto en área estéril.
7. Una vez disuelto los 500  $\mu$ l de medio con *Lactobacilo*, hacer diluciones de los tubos hasta  $10^{-3}$ , siempre agitando el tubo, para que la muestra de éste sea homogénea.
8. Una vez terminado esto, con ayuda de la propipeta, se sembrarán 100  $\mu$ l de las tres últimas diluciones en cuatro regiones del medio de rogosa en caja petri, cada dilución en una caja petri.
9. Finalmente, el medio de cultivo que se encuentra en el matraz se pone en el agitador con temperatura a  $37^{\circ}\text{C}$  a 70 rpm.

Todo esto se realizará cada dos horas, durante un tiempo total de 10, donde las diluciones van aumentando hasta llegar a  $10^{-7}$ , siempre sembrándose las tres últimas diluciones.