



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

FACULTAD DE QUÍMICA

**TEXTURA INSTRUMENTAL Y ESTABILIDAD DEL PAN  
ARTESANAL DE TRADICIÓN**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**P R E S E N T A**

**Irais Stephania Flores Olvera**

**Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2016**





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## **JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Dr. Alberto Tecante Coronel  
**VOCAL:** Q.F.B. Bertha Julieta Sandoval Guillén  
**SECRETARIO:** M. en C.B. Lorena De Anda Aguilar  
**1er. SUPLENTE:** Dr. Roeb García Arrazola  
**2º SUPLENTE:** I.A. Mariana Ramírez Gilly

## **SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

LABORATORIO 313, DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA.  
CONJUNTO E, FACULTAD DE QUÍMICA. CIUDAD UNIVERSITARIA.

### **ASESOR DEL TEMA:**

**Dr. Alberto Tecante Coronel**

---

### **SUPERVISOR TÉCNICO:**

**I.A. Mariana Ramírez Gilly**

---

### **SUSTENTANTE:**

**Irais Stephania Flores Olvera**

---

## CONTENIDO

Índice de abreviaturas .....	5
RESUMEN .....	6
ABSTRACT .....	8
INTRODUCCIÓN.....	9
Objetivos .....	12
General.....	12
Particulares .....	12
CAPÍTULO 1 .....	13
MARCO TEÓRICO.....	13
Envejecimiento del pan (bread staling) .....	13
Mecanismo de endurecimiento del pan .....	14
Componentes de la harina de trigo.....	14
Papel del almidón en el envejecimiento del pan .....	16
Retrogradación de amilopectina.....	17
Amilosa en el envejecimiento del pan .....	18
Migración de humedad.....	19
Funcionalidad de lípidos .....	20
Oxidación de lípidos .....	21
Propiedades mecánicas.....	24
Análisis de perfil de textura (TPA) .....	24
Análisis térmico.....	25
Difracción de rayos X.....	26
CAPÍTULO 2.....	28

MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
Diagrama del proceso experimental.....	28
Elaboración del pan .....	29
Análisis químico proximal.....	30
Preparación de la muestra de pan y condiciones de almacenamiento.....	31
Pruebas químicas.....	31
Pruebas mecánicas .....	31
Microcalorimetría de barrido diferencial .....	32
Difracción de rayos X de polvo.....	32
Análisis estadístico.....	33
CAPÍTULO 3 .....	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
Análisis químico proximal.....	34
Variación de la Humedad durante el almacenamiento .....	35
Oxidación de lípidos.....	36
Análisis de perfil de textura.....	37
Penetración .....	42
Análisis térmico.....	46
Difracción de Rayos X.....	49
CONCLUSIONES .....	54
REFERENCIAS .....	55
ANEXO.....	59
Análisis estadístico .....	59

## Índice de abreviaturas

$\sigma$	Esfuerzo de cizalla	Pa
E	Módulo de elasticidad	Pa
$\epsilon_H$	Deformación de Hencky	adimensional
$K_E$	E ( $\epsilon_H$ )	Pa
$\Delta H$	Entalpía de fusión	J/g
$T_p$	Temperatura pico	°C
$T_0$	Temperatura onset	°C
$T_m$	Temperatura offset	°C
CC-TA	Caja de cartón a temperatura ambiente	
BPH-TA	Bolsa de plástico hermética a temperatura ambiente	
BP-6C	Bolsa de plástico a 6°C	
$a_w$	Actividad de agua	
TPA	Perfil de análisis de textura	
DMS	Diferencia mínima significativa	
USAI	Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación	
Cal	Calorías	
N	Newton	

## **RESUMEN**

Se estudió el envejecimiento de un tipo de pan de tradición, denominado pan de muerto, con el propósito de documentar con datos científicos la evolución de la estabilidad de este importante alimento que forma parte de la cultura mexicana. Se usó la formulación de una localidad del interior de la República Mexicana debido a su probada popularidad y preferencia por el consumidor atribuida a su composición, principalmente a su contenido de lípidos. Se estudiaron las propiedades mecánicas, su estabilidad térmica asociada con la retrogradación del almidón y se exploró algún indicador químico de deterioro de lípidos. Se hicieron pruebas de compresión uniaxial, análisis de perfil de textura, microcalorimetría de barrido diferencial, dispersión de rayos X, pérdida de humedad e índice de Kreis bajo diferentes condiciones de almacenamiento; principalmente tipo de empaque y temperatura. Existió una relación de proporcionalidad inversa entre la dureza y la pérdida de humedad independientemente de las condiciones de almacenamiento. Sin embargo, el grado de pérdida de humedad dependió de dichas condiciones. La cohesividad y la fracturabilidad fueron también sensibles a la pérdida de humedad y podrían ser indicadores secundarios a la dureza para describir las alteraciones en las propiedades mecánicas de este tipo de pan. Los datos de calorimetría y difracción de rayos X no son concluyentes para detectar la cristalización de la amilopectina debido a la composición compleja de la formulación usada. Sin embargo, muestran transiciones asociadas con cambios en este componente del almidón. No se observaron cambios en la oxidación de lípidos posiblemente debido a la actividad de agua y la humedad del pan. La pérdida de humedad no fue suficiente para observar una tendencia clara de este indicador químico. La estabilidad y el endurecimiento del pan de muerto son fenómenos complejos que requieren más estudios para ser mejor comprendidos. Con este trabajo se ha iniciado dicho estudio y sus resultados permiten

entender mejor el comportamiento del pan de muerto. Asimismo, ofrecen datos científicos sobre algunos cambios fisicoquímicos y de estabilidad de este alimento tradicional mexicano que servirán de base para futuros trabajos en el área.



## **ABSTRACT**

In this work the aging of a type of traditional bread, called Pan de Muerto, was studied for the purpose of documenting with scientific data the evolution over time of this important food that is part of the Mexican culture. The formulation from a village in the countryside of Mexico was used due to its popularity and consumer preference attributed to its composition, mainly to its lipid content. Mechanical properties, thermal stability associated with starch retrogradation were studied, and a chemical indicator of lipid degradation was explored. Measurements included uniaxial compression tests, texture profile analysis, micro-differential scanning calorimetry, X-ray diffraction, moisture loss and Kreis index over different storage conditions; mainly packaging type and temperature. There was a relationship of inverse proportionality between bread hardness and moisture loss regardless of storage conditions. However, the degree of moisture loss depended on them. Cohesiveness and fracturability were also sensitive to moisture loss and may be secondary to hardness as indicators to describe the changes in the mechanical properties of this type of bread. Calorimetry and X-ray diffraction data are inconclusive to detect the crystallization of amylopectin due to the complex composition of the formulation used. However, they show transitions associated with changes in this starch component. Changes in lipid oxidation were not observed possibly due to water activity and moisture content of bread. Moisture loss was not sufficient to find a definite trend for this chemical indicator. Stability and staling of Pan de Muerto are complex phenomena that require further studies to be better understood. This work has initiated such study, and its results allow a better understanding of the behavior of Pan de Muerto. They also provide scientific data on some physicochemical changes and stability of this traditional Mexican food as a basis for future work in the area.

## **INTRODUCCIÓN**

El pan de tradición, i.e. Pan de Muerto, es para los consumidores un verdadero placer. Tiene su origen en la época de la Conquista inspirado en rituales prehispánicos y hoy en día es una de las tradiciones más importantes para las ofrendas dedicadas a los muertos. Las poblaciones especialmente del centro y sur del país han tenido un gusto particular por ese pan dedicado a los difuntos que regresan a reencontrarse con sus **familias de acuerdo con la tradición del "Día de Muertos" que se ha heredado de generación en generación desde hace varios siglos.** El gusto por la elaboración de un pan especial para el caso se remonta a la época de los sacrificios humanos y a la llegada de los españoles a la entonces Nueva España en 1519. Se dice que era un ritual en el que una princesa era ofrecida a los dioses; su corazón aún latiendo se introducía en una olla con amaranto y después quien encabezaba el rito mordía el corazón en señal de agradecimiento a un dios. Los españoles rechazaron ese tipo de sacrificios y elaboraron un pan de trigo en forma de corazón bañado en azúcar pintada de rojo, simulando la sangre de la doncella; así surgió el Pan de Muerto. Historiadores han revelado que el nacimiento de ese pan se basa en un rito que hacían los primeros pobladores de Mesoamérica a los muertos que enterraban con sus pertenencias (Rodríguez, 2010).

Algunos historiadores han dicho que este pan de hojaldre, con sus cuatro gotitas o canillas, simboliza los huesos del que se ha ido. La parte de arriba, su corazón. Para otros, el pan lleva las cuatro canillas en forma de cruz, porque con ellas se designan los cuatro rumbos del nahuolli (el universo). Son, a su vez, los cuatro puntos cardinales, definidos por igual número de divinidades: Quetzalcóatl-Camaxtli, Xipetotec, Tláloc-Huitzilopochtli y Tezcatlipoca, expresiones de la concepción del mundo prehispánico (Rodríguez, 2010).

Existen hoy en día diferentes tipos de Pan de Muerto. La creatividad culinaria de México ha producido variaciones que refrescan esta deliciosa tradición: hay quien lo rellena de nata, cajeta, chocolate y frutas secas, coco, queso crema y queso parmesano, calabaza, nuez, manzana y lo preparan hasta con harina de trigo integral. Cubierto de azúcar, ajonjolí o mantequilla; en forma de pescado, conejo, flor, difunto, en México existen alrededor de 920 variedades del tradicional Pan de Muerto, cada uno diferente entre sí y con un significado especial que se remonta a la época prehispánica (Rodríguez, 2010).

Los productos resultantes no han sido caracterizados y tampoco existe información científica o técnica sobre cómo se ven afectadas las propiedades mecánicas con el tiempo de almacenamiento en este tipo de pan. Se hace entonces necesario estudiar este alimento para conocer cuáles son los cambios que ocurren bajo diferentes condiciones de almacenamiento, cuál es la escala de tiempo sobre la cual ocurren estos cambios, saber si existe alguna relación entre diferentes propiedades que permita tener un índice adecuado de estabilidad o incluso de posible deterioro. El propósito final a largo plazo es determinar la vida útil del producto con indicadores cuantitativos que no dependan de percepciones subjetivas basadas en afirmaciones sin soporte científico o técnico alguno. Los alimentos poseen propiedades mecánicas como todos los materiales. Estas propiedades son indicadores de estabilidad, ya que el tamaño, forma y distribución de los poros en la estructura es diferente y afecta a las propiedades mecánicas y la textura (Dobraszczyk & Vincent, 2002a). En el caso del pan, al ser almacenado, la textura de la miga cambia de relativamente suave y esponjosa a firme y quebradiza, i.e. se desmorona (Gray & BeMiller, 2003). Por lo tanto, las pruebas de compresión y el análisis de perfil de textura son útiles para saber cómo se alteran diversas

características, como la dureza, la elasticidad, la masticabilidad y la cohesividad.

# Objetivos

## General

Determinar la variación de las propiedades mecánicas del Pan de Muerto con el tiempo de almacenamiento mediante pruebas de compresión uniaxial y de análisis de perfil de textura para establecer el periodo de tiempo sobre el cual aparecen modificaciones que podrían asociarse con el deterioro de este alimento y así encontrar condiciones mecánicas que pueden ser un indicador de estabilidad física de este pan.

## Particulares

Encontrar condiciones mecánicas que puedan ser un indicador cuantitativo de estabilidad física de este tipo de pan, para tener criterios objetivos de evaluación de su envejecimiento.

Determinar las condiciones de almacenamiento del pan, para encontrar cambios mensurables asociados con su envejecimiento.

Encontrar algún indicador químico que proporcione información sobre el deterioro del pan, para tener criterios no mecánicos complementarios de evaluación de su envejecimiento.

# **CAPÍTULO 1**

## **MARCO TEÓRICO**

### **Envejecimiento del pan (*bread staling*)**

Bechtel, Meinsner & Bradley (1953) definen el envejecimiento **como** “un término que indica la disminución de la aceptación del consumidor de productos de panadería causada por cambios en la miga, distintos de los **resultantes de la acción de organismos de descomposición**”. Esta definición, considerada general, es el punto de partida para describir términos más específicos como el endurecimiento de la miga y de la corteza, entre otros (Gray & BeMiller, 2003). Muchos investigadores usan la definición general de Bechtel y colaboradores y describen componentes específicos del complejo proceso que es el endurecimiento del pan con términos específicos como endurecimiento de la miga, envejecimiento de la corteza, y envejecimiento organoléptico. El indicador más ampliamente utilizado de envejecimiento es la medición del aumento de dureza de la miga, que comúnmente es el atributo más reconocido por el consumidor (Gray & BeMiller, 2003). El envejecimiento del pan provoca la pérdida de importantes parámetros sensoriales, como el sabor y la textura, y es consecuencia de un grupo de varios cambios fisicoquímicos que ocurren durante el almacenamiento del pan que dejan mayormente lugar al aumento del endurecimiento del pan y pérdida de frescura (Fadda, Sanguinetti, Del Caro, Collar & Piga 2014; Keetels, Visser, van Vliet, Jurgens & Walstra 1996).

El pan es una espuma sólida, elástica e inestable. La parte sólida contiene una fase continua compuesta en parte de una red elástica de las moléculas de gluten reticulado y en parte de las moléculas de almidón que se encuentran expuestas, principalmente de amilosa, tanto complejada

como no complejada con moléculas polares de lípidos y una fase discontinua de gránulos de almidón gelatinizados, hinchados y deformados (Gray & BeMiller, 2003). El sistema que forma el pan y el proceso de endurecimiento no se entienden bien a nivel molecular. Incluso formulaciones sencillas de masa para pan contienen varios ingredientes, que a su vez pueden contener varios componentes, cada uno de los cuales puede sufrir cambios durante el proceso de panificación y durante el endurecimiento del producto final. Y así como el pan es un sistema heterogéneo complejo, el fenómeno de endurecimiento parece ser complejo, porque la investigación de las hipótesis que implican cambios en uno o dos componentes no ha explicado completamente el proceso (Gray & BeMiller, 2003). Sin embargo, la causa más importante responsable de esta alteración es la transformación del almidón, las interacciones almidón-gluten, y la redistribución de la humedad (Fadda et al., 2014). Para entender el endurecimiento del pan, es importante comprender la naturaleza de los principales componentes que conforman el sistema.

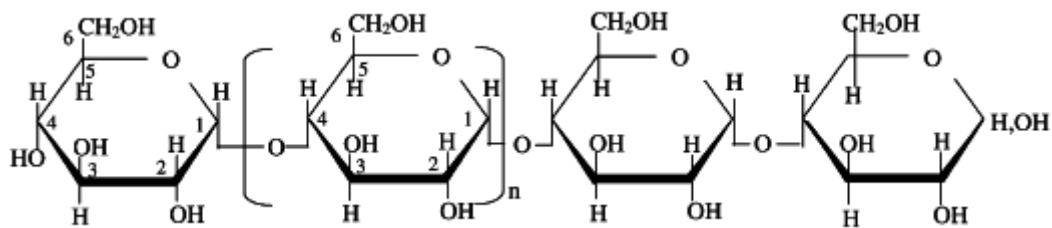
### ***Mecanismo de endurecimiento del pan***

El endurecimiento del pan incluye el de la costra y el de la miga. El endurecimiento de la costra es generalmente causado por la migración de agua desde la miga hacia la costra, lo que resulta en una textura suave y tenaz o correosa. El endurecimiento de la miga es más complejo, más importante, y menos comprendido. La dureza del pan varía con la posición espacial; la máxima dureza se localiza en la porción central de la miga (Gray & BeMiller, 2003).

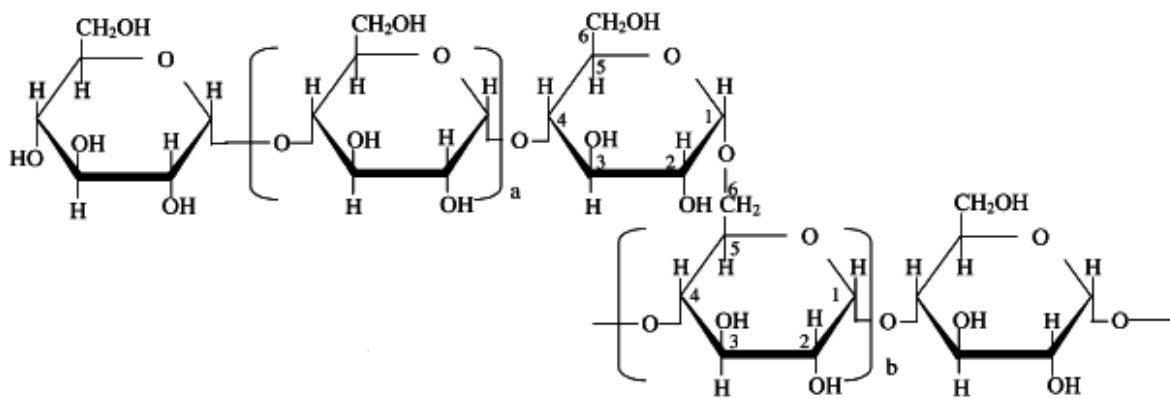
### ***Componentes de la harina de trigo***

La harina de trigo se compone principalmente de gluten, almidón y pentosanas, principalmente arabinosilanas, los cuales contribuyen de manera importante en las características del proceso y el producto final.

Los lípidos nativos de la harina juegan un papel importante en la elaboración de pan, especialmente en su interacción con los lípidos o grasas añadidos (Gray & BeMiller, 2003). El gluten hidratado es la fase continua de las masas de harina de trigo. Durante el horneado, el gluten se desnaturaliza, y la reticulación proteína-proteína se produce mediante la formación de enlaces disulfuro. La red resultante, se combina con los gránulos de almidón parcialmente gelatinizado, lo cual es sin duda responsable de la estructura semirrígida de los productos horneados (Gray & BeMiller, 2003).



Amilosa



Amilopectina

**Figura 1. Estructura de amilosa y amilopectina (Tester et al., 2004).**

El almidón es, por mucho, el compuesto principal de almacenamiento acumulado por las plantas, por lo que es uno de los más abundantes



polisacáridos presentes en la tierra. Por encima de todo, sigue siendo la fuente más importante de calorías en la dieta humana y animal y también se ha convertido en una importante fuente de materia prima vegetal para  **fines no alimentarios (Buléon, Gallant, Bouchet, Mouillec, D’Hulst, Kossmann & Ball, 1997)**. Los gránulos de almidón se componen de dos tipos de  $\alpha$ -glucanos; amilosa y amilopectina que representan aproximadamente 98 a 99% del peso en base seca. La relación de los dos polisacáridos varía según el origen botánico del almidón. Los almidones **“cerosos” contienen menos de 1% de amilosa, los “normales” de 20-35% y los almidones de “alta” amilosa aproximadamente más de 40% (Tester et al., 2004)**. En la Figura 1 se presentan las estructuras químicas de la amilosa y la amilopectina.

### ***Papel del almidón en el envejecimiento del pan***

La harina de trigo contiene 84 a 88% de almidón. Durante el horneado de la masa de pan, los gránulos de almidón generalmente gelatinizan, pero una pequeña parte de la hinchazón es restringida y seguida por un colapso que sucede en los gránulos debido a la limitada cantidad de agua presente en la masa (Gray & BeMiller, 2003). Por otro lado, observaciones hechas por microscopía electrónica de transmisión llevan a la conclusión que, después de la cocción, la mayoría de los gránulos de almidón son destruidos y la mayoría de las moléculas de almidón son parte de la fase continua, pero separadas de las cadenas de proteínas (Gray & BeMiller, 2003). Durante el almacenamiento del pan, ocurre el proceso de envejecimiento; el pan cambia de un producto muy atractivo y fresco a uno duro y envejecido. Sin embargo, otros factores contribuyen; la retrogradación del almidón, o más precisamente, la recristalización de la amilopectina es el parámetro más importante. Los emulsionantes y las amilasas son aditivos que reducen el envejecimiento del pan, y afectan la recristalización de la amilopectina (Eliasson, 2012; Ribbota & Le Bail,

2007). La presencia de amilosa influye en la recristalización de la amilopectina; se mide más amilopectina retrogradada en presencia de amilosa de lo que se esperaría si se compara con solo la presencia de amilopectina. Sin embargo, el envejecimiento del pan no está directamente relacionado con la presencia de amilosa, puede haber un efecto indirecto debido a su influencia sobre la recristalización de la amilopectina (Eliasson, 2012).

### ***Retrogradación de amilopectina***

La retrogradación en el pan es importante por dos aspectos: las características de la miga, con ella la dureza del pan fresco y los cambios en la firmeza durante el endurecimiento. La retrogradación implica el ordenamiento de las moléculas de almidón después de la gelatinización y eventualmente un aumento del orden cristalino (Eliasson, 2012). El incremento de cristalinidad, medido por difracción de Rayos X y DSC, puede no resultar necesariamente en un aumento de la dureza. Para incrementar la cristalinidad con resultado en una mayor dureza, los cristales deben estar interconectados en una red tridimensional. Las diferencias en el comportamiento de la retrogradación podrían estar relacionadas con la fina estructura de la amilopectina, el contenido de lípidos, la relación amilosa/amilopectina y los pesos moleculares (Eliasson, 2012). Varios investigadores coinciden en que hay al menos una correlación entre la retrogradación/cristalización de amilopectina y el endurecimiento, a pesar de que los dos eventos pueden no ser parte del mismo proceso (Gray & BeMiller, 2003).

En sistemas modelo, se ha encontrado que la presencia de amilosa causa un aumento en la retrogradación de la amilopectina, medido a través de la entalpía de fusión en DSC, pero en otros estudios también se ha observado una disminución de las entalpías de retrogradación con el

incremento del contenido de amilosa. Se ha encontrado que la temperatura de fusión de la amilopectina retrogradada aumenta con el tiempo de almacenamiento, lo que indica un aumento de la estabilidad de los cristales con el tiempo (Eliasson, 2012). Es bien conocido el hecho de que al calentar pan envejecido por encima de 50 °C se puede restaurar la frescura original del pan, pero debido a que la amilosa retrogradada no se derrite a estas temperaturas, se sugirió que la amilopectina es la fracción responsable del envejecimiento (Gray & BeMiller, 2003). También se ha encontrado que la temperatura de almacenamiento del pan también es importante. Cuando panes de control, i.e. horneados de masas que no han sido congeladas, se comparan con panes de masas congeladas se encontró que a 4 °C la retrogradación fue más pronunciada para el pan de masas congeladas, mientras que el almacenamiento a 20 °C resultó en una retrogradación similar, independientemente de si la masa se había congelado o no (Eliasson, 2012). También se ha encontrado que el papel que tiene la cristalización del almidón en el endurecimiento del pan se vuelve progresivamente menos importante a temperaturas de almacenamiento arriba de 21 °C (Gray & BeMiller, 2003). Los emulsionantes, e.g. monoglicéridos, son agentes anti-endurecimiento comunes. Hay varios estudios que indican que la formación del complejo se produce entre la amilopectina y los lípidos monoacilados y que tal complejación reduce el endurecimiento del pan. La explicación es que las ramificaciones de la molécula de amilopectina forman el complejo, evitando así la formación de una red tridimensional (Eliasson, 2012).

### ***Amilosa en el envejecimiento del pan***

El papel que juega la amilosa en el envejecimiento no es del todo claro ya que se han desarrollado varias hipótesis. Se ha propuesto que la amilosa, debido a su rápida retrogradación, es la responsable de establecer la estructura inicial de la miga, pero no participa en el proceso de

envejecimiento. También hay la hipótesis de que la amilosa participa en el envejecimiento del pan durante un día solamente. Se ha sugerido que el papel de la amilosa en el envejecimiento del pan puede ser simplemente uno, diluir la amilopectina (Gray & BeMiller, 2003).

### ***Migración de humedad***

El agua juega un papel crítico en el envejecimiento del pan (Baik & Chinachoti, 2000). El agua interviene en los siguientes cambios en el sistema formado por el pan: la desecación, el equilibrio de humedad entre la miga y la corteza y la redistribución de la humedad entre y dentro de los componentes del pan. El secado de pan no explica el envejecimiento, pero puede acelerar las reacciones que conducen al endurecimiento. Por lo tanto, la relación de la humedad dentro de la miga es considerada importante cuando se estudia el envejecimiento del pan (Gray & BeMiller, 2003). Zeleznak & Hosney (1986) confirmaron que la retrogradación en geles de almidón de trigo es una función de la cantidad de agua presente. También reportaron que el contenido de humedad del pan está en un punto óptimo para la retrogradación de amilopectina y que la adición de cualquier monoglicérido o grasa no altera el contenido de humedad disponible. Los cambios que ocurren en el pan durante su almacenamiento se pueden atribuir a su contenido de agua o al cambio de la actividad de agua. Los productos de baja humedad cuya temperatura de transición vítrea es inferior a la temperatura ambiente normalmente pueden describirse como estables. Sin embargo, la rigidez, la fuerza y la dureza son altamente dependientes del contenido de agua y cualquier gran penetración de agua reduce la temperatura de transición vítrea por debajo de la temperatura de almacenamiento y por ende se reducirá la rigidez y la fuerza y aumentará la dureza (Dobraszczyk & Vincent, 2002b). Baik & Chinachoti (2000) afirman que el pan almacenado con costra se endurece significativamente más que el pan que se almacena sin la costra y

contiene más amilopectina recristalizada, lo que indica que la redistribución de la humedad de la miga hacia la costra juega un papel significativo en el endurecimiento.

### **Funcionalidad de lípidos**

Los lípidos son componentes importantes en la elaboración de pan ya que proveen una variedad de propiedades benéficas durante el procesamiento y almacenamiento lo cual refleja su diversidad general. En el pan, los lípidos vienen de múltiples ingredientes. Las tres fuentes de lípidos en una formulación típica de pan son la harina de trigo, **shortening** (grasa) y agentes tensoactivos o surfactantes (Pareyt, Finnie, Putseys & Delcour, 2011). El término "**shortening**" se usó originalmente para describir la función de un lípido sólido en la cocción por el cual lubrica o debilita la masa o el efecto de ablandar los productos en los cuales se usa. Más tarde, el término se utilizó para definir el grupo de lípidos sólidos formulados especialmente para aplicaciones en el horneado (Pareyt et al., 2011). Los **shortenings** están hechos de lípidos y aceites vegetales o animales cristalinos y consisten casi en 100% de lípidos. Durante la fabricación de **shortenings**, los lípidos son parcial o totalmente hidrogenados para incrementar su contenido de sólidos. Los **shortenings** se componen generalmente de una fase oleosa y una fase lipídica sólida y por lo tanto se consideran como materiales cuasi-plásticos (Pareyt et al., 2011). El porcentaje típico que se añade de **shortening** en una fórmula de pan es de 2-5% en relación con la harina. La aplicación de **shortening** en productos de panadería depende de tres parámetros importantes (Pareyt et al., 2011). El primero es la relación de la fase sólido-líquido a una temperatura dada que determina la plasticidad de la grasa. El segundo es la estructura cristalina del lípido sólido; los triacilgliceroles pueden cristalizar en diferentes formas dependiendo del grado de sobre enfriamiento y la cizalla y las velocidades de enfriamiento durante la

producción. El tercer parámetro importante es la estabilidad del *shortening* ante la oxidación; la velocidad de auto-oxidación es, entre otras cosas, afectada por la composición de ácidos grasos y el grado de insaturación, es más rápida cuando hay más enlaces insaturados presentes (Pareyt et al., 2011).

La incorporación de lípidos en la masa de pan mejora su calidad de almacenamiento. Después de enfriar el pan, el aceite y la grasa sólida parcialmente recristalizada están presentes como una capa delgada, discontinua en las superficies de las burbujas abiertas de aire. El pan recién horneado hecho con grasa tiene una miga más suave. Esto se ha atribuido a un efecto lubricante y de ablandamiento, la mejora de la aireación y la interrupción de la red de gluten (Pareyt et al., 2011). Varios autores (Rogers et al., 1988) observaron que no sólo la firmeza de la miga inicial, sino también la tasa reafirmante de la miga se ven afectadas por la adición de grasa para una fórmula de masa de pan. Rogers et al. (1988) propusieron la interacción entre lípidos de grasa y lípidos endógenos de la harina como responsable de la tasa reafirmante más lenta. También mostraron una acción sinérgica de grasa y lípidos de la harina de trigo en términos de efectos anti-reafirmantes, ya que los efectos de la grasa dependen de la presencia de los lípidos de la harina de trigo. Estos autores también observaron que la acción anti-reafirmante de los lípidos endógenos de la harina depende de su concentración. Una explicación más probable del efecto anti-reafirmante bien puede ser que la manteca también forma una barrera a la migración de la humedad en la miga (Pareyt et al., 2011).

### ***Oxidación de lípidos***

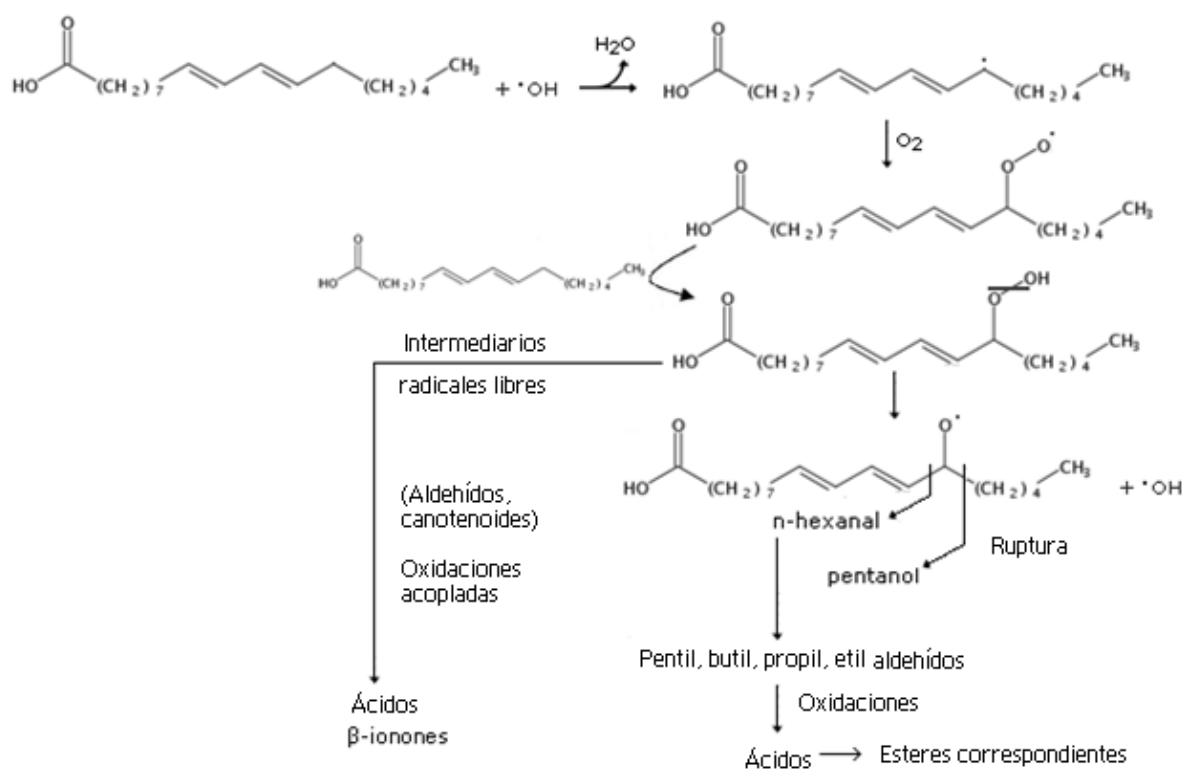
Los lípidos de los alimentos están constituidos por diversos ácidos grasos, que difieren en sus propiedades físicas y químicas y en su susceptibilidad

a la oxidación. En presencia de otros compuestos, e.g. proteínas, oxidantes y antioxidantes, las reacciones de oxidación, tanto las enzimáticas como las no enzimáticas, pueden terminar combinando sus productos con otras sustancias que no derivan de la oxidación del sustrato lipídico, lo que puede influir en la velocidad de la reacción (Fennema, 2014).

En la miga, compuestos como aldehídos, cetonas, alcoholes y ésteres pueden provenir de la oxidación de lípidos por la acción de las lipoxigenasas (Pico, Bernal & Gómez, 2015). Las lipoxigenasas catalizan la oxidación de algunos ácidos grasos insaturados en sus correspondientes hidroperóxidos. Estos hidroperóxidos tienen la misma estructura que los obtenidos por auto-oxidación. A diferencia de la auto-oxidación, las reacciones catalizadas por la lipoxigenasa se caracterizan por todas las características de la catálisis enzimática: la especificidad hacia el sustrato, la peroxidación selectiva, el pH óptimo, la susceptibilidad a un tratamiento térmico y una alta velocidad de reacción en el intervalo de 0 a 20 °C. Las lipoxigenasas oxidan solamente ácidos grasos que contienen sistemas 1-*cis*, 4-*cis*-pentadieno. Por lo tanto, los sustratos preferidos son los ácidos linoleico y linolénico (Belitz, 2009). Estos ácidos grasos en panificación son transformados en hidroperóxidos que son inestables y se degradan durante el horneado principalmente, en hexanal y hexenal, respectivamente. En estas rupturas también se produce comúnmente pentanol. A través de rupturas posteriores se generan otros aldehídos como el acetaldehído. Los aldehídos producto de la descomposición dejan paso a la formación de cetonas y ésteres como se muestra en la Figura 2. Las lipoxigenasas utilizan oxígeno para transformar los lípidos en estos aldehídos y cetonas. Por lo tanto, el pan con bajo contenido en levaduras significa más oxígeno disponible, es decir, más oxígeno que ocupan las lipoxigenasas para transformar los lípidos. Esto implica un aumento en la producción de los compuestos volátiles que resultan de la oxidación de los

lípidos. 2,4- (E,E)-decadienal, nonanal, 2-(E)-nonenal, octanal, 2-octenal, heptanal o 2-heptenal son algunos de los aldehídos a partir de la oxidación de lípidos que se han citado con frecuencia (Pico et al., 2015).

A los compuestos volátiles se les asocia con el aroma del pan. En general se puede decir que altos niveles de alcoholes, cetonas y ésteres, con bajos niveles de ácidos y aldehídos son evaluados positivamente en el análisis sensorial del pan. Sin embargo, se ha reportado que alcoholes derivados de la oxidación de lípidos como 1-hexanol y 1-octen-3-ol implican aromas desagradables en pan de trigo, mientras que aldehídos como 2-metilpropanal, octanal, nonanal o fenilacetaldehído implican notas agradables (Pico et al., 2015).



**Figura 2. Productos de la oxidación de lípidos en el pan a partir de ácido linoléico (Pico et al., 2015)**



De hecho, la pérdida de frescura es resultado de compuestos volátiles específicos. Por lo tanto, los odorantes importantes disminuyen rápidamente durante el almacenamiento, mientras que los volátiles menos deseables de la oxidación de lípidos, con notas de mal sabor, permanecen relativamente sin cambios. Algunos compuestos se asocian con la frescura, por ejemplo, el diacetilo con notas de mantequilla, el furfural con notas tostadas o el 2-metilbutanal con notas de malta (Pico et al., 2015).

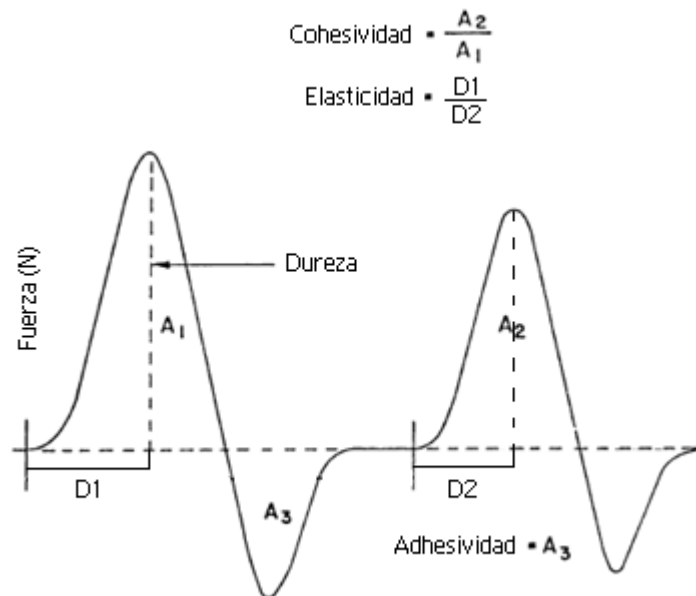
### ***Propiedades mecánicas***

Las propiedades mecánicas son los principales bloques de construcción de la textura física. En los alimentos derivados del almidón están basadas en medidas de rigidez, fuerza y dureza (Dobraszczyk & Vincent, 2002a). Se han desarrollado numerosos métodos de compresión para cuantificar la firmeza del pan y se ha demostrado que se correlaciona con su endurecimiento tal como se mide por la aceptación del consumidor. Por lo tanto, las mediciones de compresión son las más utilizadas (Gray & BeMiller, 2003).

### ***Análisis de perfil de textura (TPA)***

La textura es la manifestación sensorial y funcional de las propiedades estructurales, mecánicas y superficiales de alimentos detectadas a través de los sentidos de la vista, el oído, el tacto y el sentido kinestésico (Szczesniak, 2002). Dado que la textura es un atributo de múltiples parámetros, como se evidencia por un gran número de palabras usadas para describirlo, es lógico tratar de introducir un poco de orden y clasificar términos en ciertas categorías (Szczesniak, 2002). En análisis instrumental el perfil de textura implica la compresión de la muestra de ensayo al menos dos veces y la cuantificación de los parámetros mecánicos de las curvas de esfuerzo-deformación (Fig. 3). Los parámetros

primarios son: dureza, cohesividad, adhesividad y elasticidad. Los parámetros secundarios son: fracturabilidad, gomosidad y masticabilidad.



**Figura 3. Curva generalizada del análisis instrumental de perfil de textura (Szczesniak, 2002).**

### **Análisis térmico**

Básicamente, la DSC es una técnica mediante la cual se mide la diferencia de energía entre una muestra y un material de referencia, como función de la temperatura mientras ambos materiales son sometidos a calentamiento o enfriamiento programado. En la DSC, cuando se produce una transición térmica, la energía absorbida por la muestra se repone por el aumento de la entrada de energía de la muestra para mantener el equilibrio de la temperatura. Debido a que esta entrada de energía es precisamente equivalente en magnitud a la energía absorbida en la transición, un registro de esta energía de equilibrio produce una medición calorimétrica directa de la transición de la energía que se registra entonces como un pico. El área bajo el pico es directamente proporcional al cambio entálpico ( $\Delta H$ ) y su dirección indica si el evento térmico es endotérmico o exotérmico. En el caso del almidón retrogradado, el valor

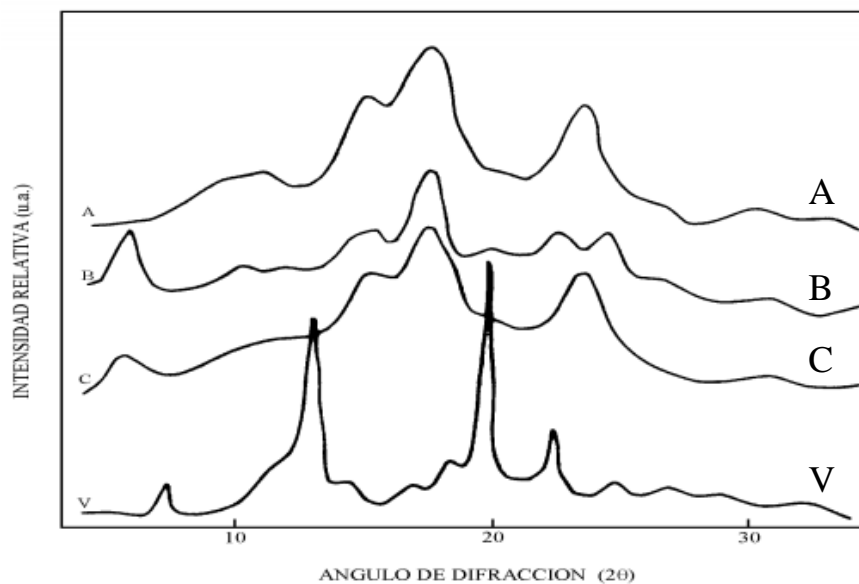
de  $\Delta H$  proporciona una medida cuantitativa de la transformación de la energía que se produce durante el derretimiento de la amilopectina recristalizada, así como mediciones precisas de las temperaturas de transición, i.e. inicio,  $T_o$ ; pico,  $T_p$ ; y final,  $T_c$ ; de este evento endotérmico (Karim, Norziah & Seow, 2000).

Debido a que las escalas de tiempo para el desarrollo de la endoterma y para el aumento de la dureza de la miga son muy similares en magnitud, la DSC puede ser utilizada para medir la tasa de endurecimiento cuantitativamente. Sin embargo, hay transiciones sobrepuestas en un amplio intervalo de temperaturas debido a la variedad de componentes y gama de estructuras presentes, que causan dificultades de análisis (Gray & BeMiller, 2003).

### ***Difracción de rayos X***

Esta técnica ha sido usada para examinar el endurecimiento del pan, específicamente la naturaleza cristalina del almidón en el sistema, lo que puede estar relacionado con la firmeza del producto. El almidón en el pan recién horneado es principalmente amorfo, pero poco a poco se vuelve a organizar durante el almacenamiento (Gray & BeMiller, 2003). La recristalización se refleja en los patrones de difracción de rayos X. Por lo tanto, la difracción de rayos X se puede utilizar para determinar la organización molecular del almidón en el pan. Sin embargo, la difracción de rayos X de polvo no es particularmente sensible en comparación con otras técnicas, como la RMN, que son capaces de detectar incluso extensiones menores de recristalización (Gray & BeMiller, 2003). En la Figura 3 se observan los distintos patrones. Un patrón de tipo A es exhibido por almidones de cereales, arroz, trigo, y maíz, mientras que un patrón de tipo B se muestra por tubérculos, frutas, almidones de maíz de alta amilosa (> 40%), y almidón retrogradado. El patrón de tipo C, que es

intermedio entre los tipos A y B, se observa en los almidones de semillas de leguminosas (Karim et al., 2000). La difracción de rayos X en polvos se hace generalmente en muestras de almidón hidratadas. La hidratación se lleva a cabo equilibrando la muestra en un desecador mantenido a una cierta humedad relativa y temperatura. La hidratación se hace para mejorar la resolución de los perfiles, es decir, los patrones se hacen más nítidos y más pronunciados, sin que los patrones reales sean afectados (Karim et al., 2000).



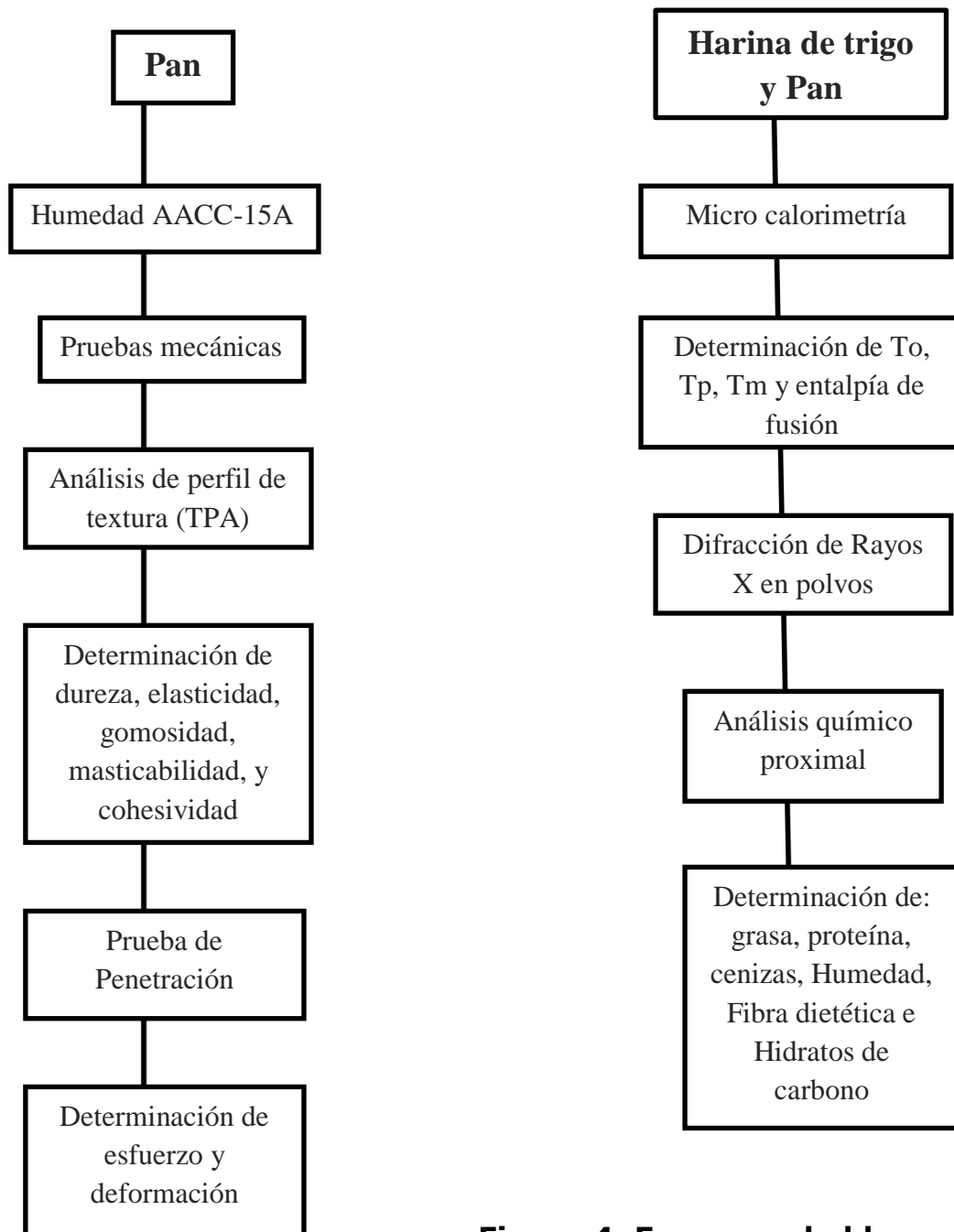
**Figura 3. Diffractograma de almidones de diferente fuente botánica. (A) cereales, (B) tubérculos, (C) una mezcla intermedia del patrón tipo A y B, (V) patrón característico que se forma de un complejo de inclusión (formado en el interior de la hélice de la amilosa) (Rodríguez et al., 2001).**

# CAPÍTULO 2

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diagrama del proceso experimental

La Figura 4 muestra el diagrama de bloques de la metodología usada.



**Figura 4. Esquema de bloques de la metodología usada.**

## **Elaboración del pan**

El pan se preparó en una panadería comercial, con base en una formulación y un proceso definidos con el fin de asegurar una fabricación lo más homogénea y repetible posible y siempre bajo las mismas condiciones por un panadero experto. El estudio se hizo con pan de muerto sin ornamentos, i.e. canillas, ni sólidos en la superficie y en la miga e.g. nueces, ajonjolí, pasas y demás. La Tabla 1 muestra la formulación utilizada.

**Tabla 1. Formulación del pan de muerto usada en este estudio.**

Ingrediente	Composición*(%)
Harina de trigo (La Espiga, Harinera La Espiga S.A. de C.V., México)	100
Huevo entero	60
Azúcar estándar	35
Grasa	35
Leche de vaca pasteurizada/homogeneizada	12.5
Levadura fresca para panificación (Fleischmann, México)	1
Canela en polvo	1
Vainilla en extracto líquido	1

\*con base en la cantidad de harina

Los ingredientes se mezclaron y se amasaron mecánicamente (Amasadora Ruvamex, México). La harina se mezcló con el azúcar, el huevo entero, la grasa, la canela y el extracto de vainilla. La levadura se añadió dispersada en la leche. Esta operación duró 20 minutos y se hizo a temperatura ambiente. La masa resultante se colocó en una charola metálica (0.4 x 0.6 m), se cubrió con plástico translúcido y se fermentó durante aproximadamente 105 min a una temperatura de 30 a 36 °C. Luego la

masa se dejó reposar aproximadamente 45 minutos a 34-38 °C, siempre **cubierta con el plástico. La masa se “boleo”** manualmente en esferas de aproximadamente 6 cm de diámetro y las bolas se colocaron en charolas. Las charolas se introdujeron en un horno de panadería (Praktimex, México) precalentado y se hornearon durante 30 min a 160-170 °C.

### ***Análisis químico proximal***

Se realizó en pan y en la harina con la que se elaboró.

- Proteína

Se determinó por triplicado la proteína cruda por el método de Kjeldahl AOAC 2001.11 (AOAC, 1995).

- Lípidos

Se llevó a cabo por triplicado la extracción y cuantificación de lípidos por el método de Soxhlet. Se pesaron  $4.0 \pm 0.001$  g y se colocó en un cartucho de celulosa. La extracción se hizo con éter etílico a ebullición suave por dos horas aproximadamente (James, 1999).

- Minerales

Se determinó por triplicado con el método de cenizas totales por calcinación. Se pesaron  $3.0 \pm 0.001$  g y se colocaron en crisoles de porcelana a peso constante. Se calcino la muestra, primeramente con un mechero hasta que no se desprendan humos, y posteriormente se metió a la mufla por aproximadamente 3 h a una temperatura de 550 °C hasta obtener cenizas blancas (Kirk, Sawyer & Egan, 1996).

- Fibra dietaria

Se determinó por triplicado por el método enzimático-gravimétrico AOAC 985.29 (AOAC, 1995).

- Humedad

Se midió por triplicado utilizando el método de la American Association of Cereal Chemists 44-15A (AACC, 2000).

## ***Preparación de la muestra de pan y condiciones de almacenamiento***

Se utilizaron cuatro panes para los análisis, los cuales se realizaron en un periodo de dos semanas, monitoreando el pan los días: 1, 3, 9, 11 y 14, así como tres condiciones de almacenamiento; temperatura ambiente en bolsa de plástico hermética, temperatura ambiente en caja de cartón y refrigeración a 6 °C en bolsa de plástico.

## ***Pruebas químicas***

### Deterioro de lípidos

- Índice de Kreis

Se disolvieron de 50 a 500 mg de grasa en 5 mL de diclorometano. Se añadieron 10 mL de una solución de ácido tricloroacético al 30% en ácido acético glacial y 1 mL de floroglucinol al 1% en ácido acético. Se agito e incubó por 15 minutos, en un baño maría a 45 °C, se dejó enfriar y se agregaron 4 mL de etanol. Posteriormente se midió la absorbancia de la muestra a 540 nm frente a un blanco de reactivos. El índice de Kreis se calculó como Abs a 540 nm sobre gramo de grasa (Pearson, 1993).

## ***Pruebas mecánicas***

El análisis de perfil de textura (TPA) se realizó en una máquina de pruebas mecánicas SINTECH 1/S (MTS.EE.UU.) con una celda de carga de 100 N y una geometría cilíndrica de aluminio de 25 mm de diámetro. La velocidad de compresión fue 1 mm/s y una deformación de 50% en relación con la altura original de la muestra. Cada muestra se comprimió dos veces. La medición se realizó por triplicado en cubos de 25 mm por lado tomados de la parte central del pan.

El análisis de punción se realizó en la misma maquina con una celda de carga de 100 N y 500 N, y una punta cilíndrica de aluminio de 13 mm de diámetro. La velocidad de compresión fue 0.5 mm/s y una deformación de



50% en relación con la altura original de la muestra. La medición se realizó por triplicado en cubos de 35 mm por lado tomados de la parte central del pan.

### ***Microcalorimetría de barrido diferencial***

El análisis de microcalorimetría diferencial de barrido ( $\mu$ DSC) se realizó en un microcalorímetro ( $\mu$ DSC Evo7, Setaram, Caluire, Francia) con celdas Hastelloy C276, con capacidad máxima de 875  $\mu$ L cada una. Se trabajó un ciclo de calentamiento-enfriamiento con rampas de ascenso y descenso de temperatura de 20 a 95 °C y 95 a 20 °C, respectivamente, con una velocidad de 1.0 °C/min en ambas rampas; cada prueba tuvo una duración de 160 min. Se registró la diferencia en el flujo de calor que se tiene que suministrar a ambas celdas para mantenerlas a la misma temperatura. Se usaron  $700 \pm 5$  mg de muestra en cada medición. Para ello se desmoronó la miga de pan y se pasó por un colador de cocina convencional de metal para disminuir el tamaño de partícula. Se congeló por 24 h y posteriormente se liofilizó por 4 h. Posteriormente se hidrató el pan con agua desionizada en una proporción pan-agua de 3:1. En la celda de referencia se colocó agua desionizada.

### ***Difracción de rayos X de polvo***

Se desmoronó el pan en una licuadora doméstica (Oster, México) en la velocidad más baja y se pasó por un colador de cocina convencional de malla metálica para disminuir el tamaño de partícula. El análisis se realizó en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI), de la Facultad de Química-UNAM. Se midió la intensidad de la difracción en el intervalo  $2\Delta$  de 4 a 35°, con una duración aproximada de 40 min por muestra.

### ***Análisis estadístico***

Se realizó un ANOVA con un  $\alpha = 0.05\%$  para determinar si existían diferencias estadísticas entre los tratamientos y los días de monitoreo. En caso de que existiera diferencia se realizó una prueba de DMS para saber entre que tratamientos o días de monitoreo es que existe diferencia.

## CAPÍTULO 3

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### **Análisis químico proximal**

La Tabla 2 muestra los resultados del análisis químico proximal de la harina y el pan. En el pan, destaca su contenido de lípidos e hidratos de carbono lo que explica su alto aporte calórico calculado para una porción de 100 gramos. Dicho aporte es aproximadamente dos veces mayor que el de la harina. Debido al tipo de harina que se utilizó, el contenido de fibra es relativamente bajo. Existen algunas versiones de este pan en las que se ha usado harina de trigo integral, pero la consistencia de la miga es muy diferente y el consumidor no la aprecia mucho dado que la describe como "reseca".

**Tabla 2. Resultados del análisis químico proximal de pan y harina.**

	Pan	Harina
Humedad (%)	17.0 ± 0.10	12.5 ± 0.01
Proteína (%)	8.0 ± 0.53	10.6 ± 0.25
Lípidos (%)	21.4 ± 2.2	1.5 ± 0.07
Minerales (%)	0.53 ± 0.02	0.57 ± 0.04
Fibra total (%)	5.7 ± 0.16	5.4 ± 0.12
Hidratos de Carbono (%) <sup>a</sup>	47.4	69.4
Aporte calórico (porción de 100 g) (cal)	333.6	143.8

<sup>a</sup>Determinados por diferencia

El material lipídico está formado por una combinación de mantequilla y manteca de cerdo en proporciones fijas y bien establecidas, no necesariamente disponibles ya que cada panadero tiene su receta personal y a veces no es fácil obtenerla. A pesar del elevado aporte calórico y la cantidad de grasas saturadas provenientes de la mantequilla

y la manteca de cerdo, este pan es muy popular sobre todo en temporada y justamente por su contenido de lípidos se afirma que su tiempo de duración puede ser de semanas, incluso si se almacena en bolsas de plástico. Este tipo de afirmaciones y la falta de datos científicos que las soporten fueron parte de la motivación de este estudio para examinar este alimento tan arraigado en nuestra cultura.

### ***Variación de la Humedad durante el almacenamiento***

La Tabla 3 muestra el cambio de humedad del pan para los distintos tiempos y condiciones de almacenamiento. La disminución de humedad fue diferente para cada condición. En el pan guardado en un recipiente de cartón a temperatura ambiente, CC-TA, hubo una notable pérdida de humedad con el tiempo ( $\approx 66\%$ ). Esto puede atribuirse al hecho de que en este caso no hubo barreras contra la pérdida de humedad como en el caso del envase plástico con o sin baja temperatura. Conforme transcurrió el tiempo, el pan almacenado en caja de cartón fue más duro al tacto y esto se puede atribuir a la pérdida de humedad. Por otro lado, el análisis de varianza muestra que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) en la humedad durante los catorce días de almacenamiento para las muestras BPH-TA y BP-6C, lo que significa que el almacenamiento en bolsa de plástico resultó en una baja pérdida de humedad debido a la baja permeabilidad al vapor de agua del empaque (Illanes, 2004). La temperatura no parece tener un efecto visible sobre la pérdida de humedad. A pesar de ello y como se discute más adelante, la humedad tiene gran relación con las propiedades mecánicas y por ende con la textura del pan dado que la pérdida de humedad durante el almacenamiento conduce a un estado vítreo que puede resultar en inestabilidad. Asimismo, la pérdida de humedad puede dar lugar a encogimiento o a deformación del pan (Dobraszczyk & Vincent, 2002a). El análisis de varianza muestra que la humedad registrada es afectada por

los diferentes tratamientos, existe diferencia significativa entre las muestras BPH-TA y CC-TA, así como BP-6C y CC-TA; pero no para los diferentes monitoreos de cada uno de los tratamientos.

**Tabla 3. Porcentaje de humedad en pan almacenado con bolsa hermética a temperatura ambiente, caja de cartón a temperatura ambiente y bolsa de plástico a 6°C a 1, 3, 9, 11 y 14 días.**

Día	BPH-TA*	CC-TA*	BP-6C*
1	17.66 ± 1.61 <sup>a</sup>	17.66 ± 1.61 <sup>a</sup>	17.66 ± 1.61 <sup>a</sup>
3	16.22 ± 0.53 <sup>a</sup>	13.16 ± 0.03 <sup>b</sup>	16.56 ± 0.62 <sup>a</sup>
9	15.32 ± 1.12 <sup>a</sup>	8.32 ± 2.06 <sup>b</sup>	15.90 ± 1.41 <sup>a</sup>
11	15.50 ± 1.41 <sup>a</sup>	6.68 ± 2.02 <sup>b</sup>	15.82 ± 0.11 <sup>a</sup>
14	15.32 ± 1.00 <sup>a</sup>	6.00 ± 1.00 <sup>b</sup>	14.18 ± 0.55 <sup>a</sup>

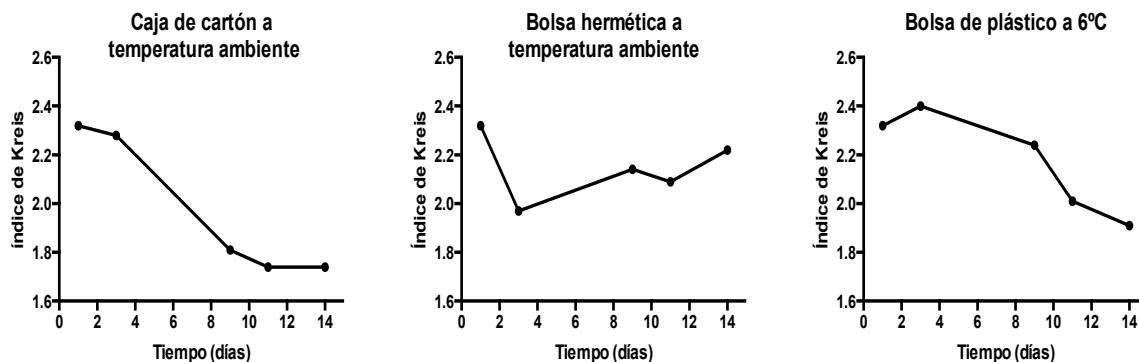
\*BPH-TA = Bolsa de plástico hermética a temperatura ambiente, CC-TA = Caja de cartón a temperatura ambiente, BP-6C = Bolsa de plástico a 6 °C. <sup>a-b</sup> Letras diferentes significan que existe diferencia significativa entre los valores medios de los tratamientos (P < 0.05).

### ***Oxidación de lípidos***

Debido a que 35% de la formulación del pan es materia grasa se consideró conveniente medir la oxidación de lípidos para de esta forma tener un índice químico de deterioro de la calidad del pan. En la miga, compuestos como lo son los aldehídos pueden venir de la oxidación de lípidos por acción de las lipoxigenasas (Pico et al., 2015). Los hidroperóxidos inestables se degradan durante el horneado principalmente en hexenal y hexanal; rupturas posteriores generan otros aldehídos como el acetaldehído (Pico et al., 2015).

La Figura 5 muestra la variación en el índice de Kreis para las diferentes condiciones de almacenamiento. La floroglucina reacciona en medio ácido con las grasas oxidadas y produce una coloración roja cuya intensidad aumenta con el deterioro debido probablemente a la presencia de aldehído malónico o de aldehído epihidrínico (Pearson, 1993). Entonces se esperaría un aumento del índice conforme pasan los días de

almacenamiento si hubiese oxidación de lípidos ocurriendo. En los casos CC-TA y BP-6C el índice decrece conforme aumenta el tiempo de almacenamiento. En el BPH-TA el índice aumenta del día 3 al 14, pero para esta condición y para las otras dos, estadísticamente no hay cambios significativos entre tratamientos y tampoco entre los días de almacenamiento.



**Figura 5. Relación del índice de Kreis y días de almacenamiento para el pan en las diferentes condiciones medidas: Bolsa de plástico hermética a temperatura ambiente, Caja de cartón a temperatura ambiente, Bolsa de plástico a 6 °C.**

El aroma del pan se atribuye a los aldehídos que están presentes. Hay aldehídos que imparten notas placenteras como el 2-metilpropanal, octanal, nonanal o fenilacetaldehído (Pico et al., 2015), pero conforme avanza el almacenamiento los odorantes placenteros disminuyen rápidamente, mientras que los compuestos volátiles menos deseados de la oxidación de lípidos, con notas sin sabor, permanecen relativamente sin cambios (Pico et al., 2015). Entonces, los resultados sugieren que lo que se observa es la disminución de volátiles aromáticos del pan los cuales disminuyen con el tiempo de almacenamiento.

### ***Análisis de perfil de textura***

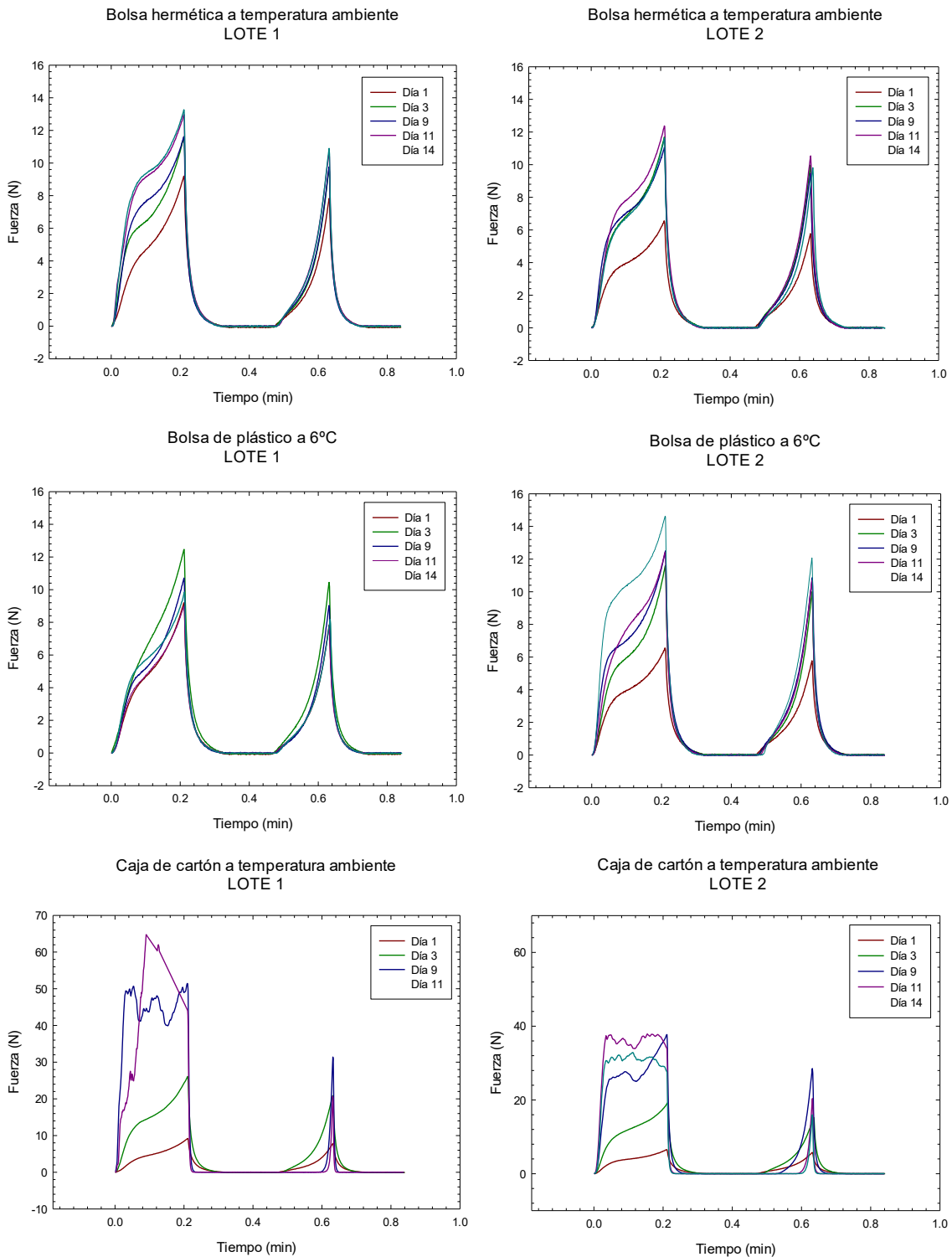
Las propiedades de mayor interés en este estudio son la dureza, la elasticidad, la cohesividad y la fracturabilidad en primera instancia. Estas

propiedades son las más estudiadas porque proporcionan información útil que ayuda a explicar el envejecimiento del pan (Ronda et al., 2011; Baik & Chinachoti, 2000).

En la Figura 6 se presentan por separado los perfiles obtenidos en dos lotes monitoreados en las tres condiciones de almacenamiento estudiadas. En el pan CC-TA no fue posible llevar a cabo las pruebas de TPA el onceavo día de almacenamiento del Lote 1 porque la muestra se desintegraba después de la primera compresión y la señal obtenida no fue muy clara como se aprecia en la Figura 6. Baik & Chinachoti (2000) observaron una disminución en la humedad de la miga del pan con corteza, siendo pan blanco estándar el ocupado en el estudio, que fue almacenado durante dos semanas. La humedad se distribuye entre la miga y la corteza durante el tiempo de almacenamiento.

En la Figura 7 se muestra la relación que existe entre la pérdida de humedad y el aumento de la dureza conforme transcurre el tiempo de almacenamiento en cada una de las condiciones probadas. El pan CC-TA muestra una tendencia lineal ( $R^2 = 0.98$ ) en la que el aumento de la dureza es directamente proporcional a la pérdida de humedad durante el tiempo de almacenamiento. Con esto se confirma lo presentado por Ronda et al. (2011) y también por Baik & Chinachoti (2000). Para las dos condiciones restantes la relación no es tan clara ( $R^2 = 0.85$  para BPH-TA y  $R^2 = 0.71$  para BP-6C), pero la tendencia es similar; la dureza aumenta conforme la humedad disminuye. Los pequeños aumentos en la pérdida de humedad pueden atribuirse a algún cambio en la humedad del ambiente el día de la prueba. La disminución de la dureza que también se observa puede atribuirse al mismo factor.

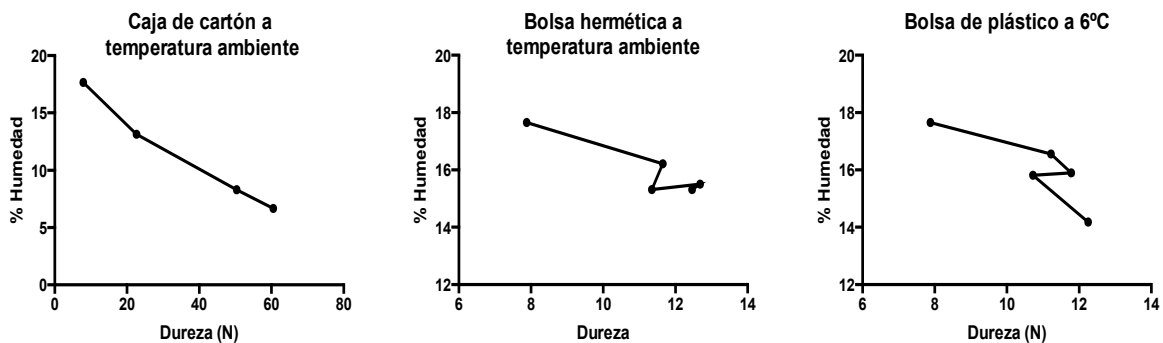
La retrogradación del almidón es un fenómeno que depende de la temperatura y el tiempo e implica la reasociación de los componentes del almidón en una estructura ordenada, parcialmente cristalina (Ronda et al., 2011).



**Figura 6. Análisis de perfil de textura de dos lotes de pan BPH-TA (arriba), BP-6C (en medio) y CC-TA los días 1, 3, 9 y 11 de almacenamiento.**



En condiciones favorables esto da por resultado la cristalización parcial de amilosa y amilopectina. La cinética de recristalización de los dos polímeros difiere considerablemente. La amilosa pura en agua cristaliza en horas, mientras que la amilopectina en agua requiere varios días para su cristalización (Miles et al., 1985). Debido a que el endurecimiento del pan también se desarrolla durante varios días, la mayoría de los modelos de endurecimiento toman los cambios en la amilopectina como la causa principal de endurecimiento de la miga del pan (Zobel & Kulp, 1996).



**Figura 7. Relación de la Dureza y el contenido de humedad del pan CC-TA (izquierda), BPH-TA (centro) y BP-6C (derecha).**

La Tabla 3 muestra las diferentes propiedades mecánicas evaluadas en el análisis de perfil de textura. La cohesividad fue disminuyendo con el tiempo para las tres condiciones de almacenamiento. La cohesividad es el grado en que un material puede deformarse antes de fracturarse (Szczesniak, 2002). Por lo tanto, el pan va perdiendo esta propiedad con el tiempo ya que se hace más susceptible a la fractura.

La elasticidad disminuyó con el tiempo en el pan CC-TA. La elasticidad es la velocidad con la que un material deformado retoma su condición no deformada después de que se elimina la fuerza que lo deforma (Szczesniak, 2002). Debido a que la pérdida de agua en los otros dos tratamientos, la elasticidad del pan CC-TA no fue tan grande como en los otros dos casos ya que la capacidad de la muestra para recuperar su

forma inicial fue menor. No obstante, en ningún caso la muestra regresó a su forma inicial.

Otra propiedad que se pudo apreciar en los diagramas de TPA, principalmente en el noveno y onceavo días de almacenamiento fue la fracturabilidad. Esta propiedad es la fuerza con la que el material se fractura parcialmente, es decir, antes de la fractura total representada por la dureza. La fracturabilidad puede presentarse en un material con alto grado de dureza y bajo grado de cohesividad (Szczeniak, 2002) y aparece como un pico, o varios, antes del máximo de fuerza que representa la dureza.

**Tabla 3. Efecto del tiempo de almacenamiento a diferentes condiciones en el perfil de análisis de textura.**

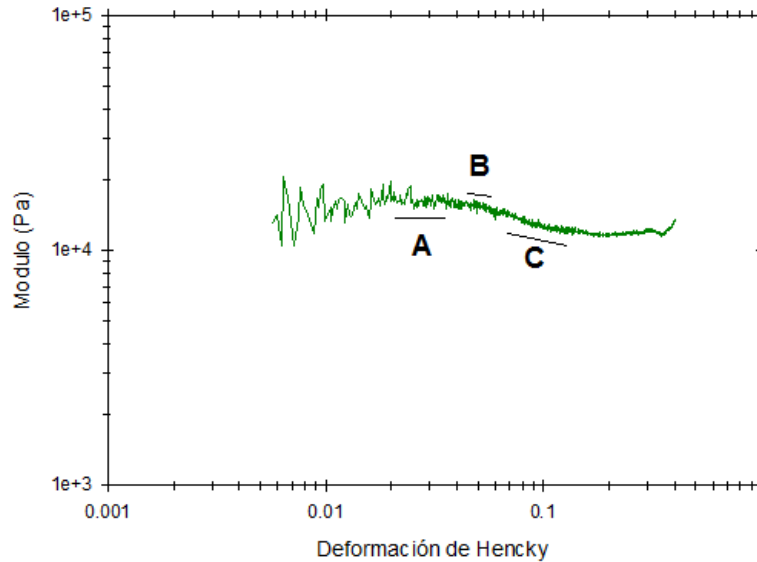
Condición	t (días)	Dureza (N)	Cohesividad (adimensional)	Elasticidad (mm)	Masticabilidad (J)	Gomosidad (N)
CC-TA	1	7.88 ± 1.87	0.442 ± 0.013	20.49 ± 0.141	0.070 ± 0.013	3.12 ± 1.20
	3	22.66 ± 4.89	0.332 ± 0.002	20.73 ± 1.32	0.154 ± 0.020	7.50 ± 1.49
	9	50.37 ± 17.30	0.102 ± 0.082	16.91 ± 0.231	0.036 ± 0.009	4.58 ± 2.81
	11	60.50 ± 27.08	0.022 ± 0.016	14.82 ± 1.48	0.016 ± 0.007	1.10 ± 0.440
BPH-TA	1	7.88 ± 1.87	0.442 ± 0.013	20.49 ± 0.141	0.070 ± 0.013	3.12 ± 1.20
	3	11.65 ± 0.052	0.388 ± 0.018	21.03 ± 0.735	0.095 ± 0.008	4.52 ± 0.246
	9	11.35 ± 0.423	0.364 ± 0.018	20.19 ± 0.090	0.082 ± 0.0007	4.11 ± 0.080
	11	12.68 ± 0.420	0.362 ± 0.033	20.32 ± 0.304	0.092 ± 0.005	4.55 ± 0.323
	14	12.46 ± 1.14	0.354 ± 0.049	20.03 ± 0.202	0.087 ± 0.005	4.40 ± 0.217
BP-6C	1	7.88 ± 1.87	0.442 ± 0.013	20.49 ± 0.141	0.070 ± 0.013	3.12 ± 1.20
	3	11.22 ± 1.75	0.421 ± 0.011	21.00 ± 0.815	0.099 ± 0.014	4.74 ± 0.848
	9	11.78 ± 1.011	0.414 ± 0.020	20.32 ± 0.108	0.098 ± 0.002	4.86 ± 0.178
	11	10.72 ± 2.43	0.398 ± 0.031	20.77 ± 0.060	0.087 ± 0.012	4.20 ± 0.610
	14	12.25 ± 3.38	0.352 ± 0.042	19.91 ± 0.482	0.083 ± 0.012	4.23 ± 0.685

Un material puede mostrar dureza y ser a la vez muy fracturable, frágil o quebradizo si antes del pico máximo de fuerza del primer ciclo de **compresión aparecen muchos picos o “saltos” en la señal de fuerza.** El pan muestra las características que define Szczesniak (2002) ya que como se muestra en la Tabla 3 se observó un aumento en la dureza con el tiempo, mientras que la cohesividad disminuyó. Por lo tanto, el pan fue cada vez más fracturable o quebradizo. Por otro lado, la masticabilidad y la gomosidad no mostraron tendencia alguna de utilidad para el análisis del comportamiento mecánico de este tipo de pan.

### ***Penetración***

Las pruebas de compresión en este tipo de alimento son muy variables durante el tiempo debido a que los alimentos son una matriz muy compleja. Debido a que el pan no se comporta de acuerdo con la ley de Hooke se recurre a una expresión empírica dada por la ecuación (3) la cual puede hacerse lineal para obtener dos parámetros empíricos que describan el comportamiento de compresión previo a la penetración.

La Figura 8 muestra la variación del módulo elástico con la deformación de Hencky. En la zona A, que es en este caso muy corta, el módulo es independiente de la deformación y por lo tanto representa el valor en la zona inicial y es conocido como módulo de Young. En esta región  $n = 1$  en la ecuación (3) y por lo tanto se cumple la ley de Hooke. La zona B es la transición hacia la zona de disminución lineal C del módulo con la deformación.



**Figura 8. Variación del módulo de elasticidad con la deformación de Hencky.**

De acuerdo con la ley de Hooke

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon_H} \quad (1)$$

Si se generaliza sobre todo el intervalo de deformación

$$\sigma = K_E \varepsilon_H^n \quad (2)$$

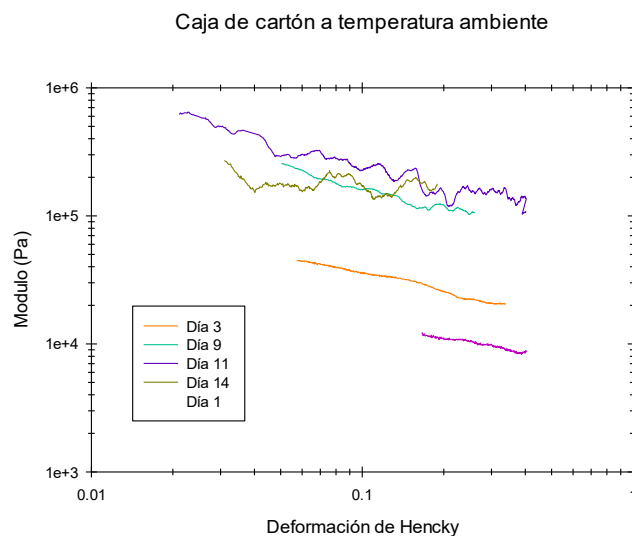
En esta ecuación  $K_E$  es equivalente a  $E(\varepsilon_H)$ , es decir, el módulo de elasticidad que depende de la deformación de Hencky. Si se toman en cuenta (1) y (2) se tiene que

$$E = K_E \varepsilon_H^{n-1} \quad (3)$$

Y al tomar logaritmos

$$\log E = \log K_E + (n - 1) \log \varepsilon_H \quad (4)$$

Entonces, la ecuación (4) puede ser un empirismo útil para describir toda la curva de penetración. Conforme aumenta el tiempo de almacenamiento se espera que las pendientes sean más pronunciadas. Esto podría atribuirse a la dureza del pan ya que entre mayor es la pendiente, más dura es la miga del pan. El ruido que se presenta el onceavo y el décimo cuarto días de almacenamiento en la Figura 6 se debe a la pérdida de humedad con el tiempo que genera una estructura más frágil o quebradiza, es decir, fracturable pero a la vez más dura, de ahí que la fuerza que se necesita para deformarlo es mayor. Cada vez que el equipo detecta una fractura aparece un pico en la señal, especialmente el pan CC-TA en el que se observan las mayores variaciones de este tipo. Otro factor que contribuye en forma de ruido como el que se aprecia en la Figura 8 para muy bajas deformaciones de Hencky es que la celda de carga que se utilizó para el pan CC-TA en los últimos dos días de monitoreo es de 500 N. Por lo tanto, es menos sensible que la de 100 N ocupada al inicio; esto explica los "saltos" que se observan en la Figura 9. No obstante, es posible observar la tendencia decreciente descrita por la ecuación (4), siempre y cuando  $n < 1$ .



**Figura 9. Prueba de penetración en pan almacenado en caja de cartón a temperatura ambiente.**

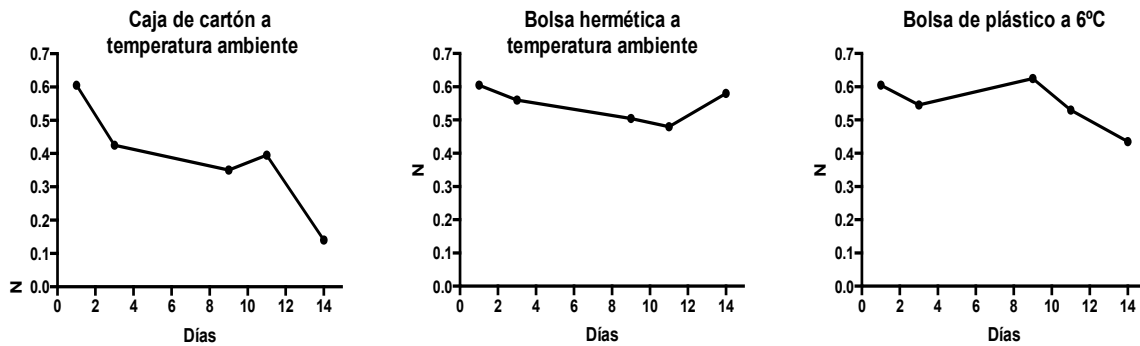
En la Tabla 4 se observa que la pendiente disminuye aunque el análisis estadístico muestra que no existe diferencia tanto en los diferentes monitoreos como en los distintos tratamientos.

**Tabla 4. Efecto del tiempo a diferentes condiciones de almacenamiento en pruebas de punción.**

	Días	Ke (Pa)	n
CC-TA	1	6196 ± 579	0.61 ± 0.035
	3	10004 ± 1583	0.43 ± 0.064
	9	32398 ± 5452	0.35 ± 0.028
	11	58919 ± 28105	0.40 ± 0.078
	14	34704 ± 28105	0.14 ± 0.170
BPH-TA	1	6196 ± 579	0.61 ± 0.035
	3	8612 ± 973	0.56 ± 0.00
	9	9241 ± 163	0.51 ± 0.021
	11	9442 ± 3659	0.48 ± 0.113
	14	10326 ± 1460	0.58 ± 0.071
BP-6C	1	6196 ± 579	0.61 ± 0.035
	3	6606 ± 818	0.55 ± 0.035
	9	10105 ± 130	0.63 ± 0.007
	11	7257 ± 926	0.53 ± 0.071
	14	6944 ± 2416	0.44 ± 0.021

En la Figura 10 se muestra la tendencia del parámetro empírico n de la ecuación (4) con el tiempo de almacenamiento para las diferentes condiciones de almacenamiento. En el pan CC-TA, n desciende de manera más pronunciada en comparación con los otros dos tratamientos. Al comparar con las pruebas de TPA y de variación de humedad se puede decir que para el pan CC-TA la tendencia observada es debida a un aumento de la dureza y disminución de la humedad. En el pan BPH-TA y el

BP6C también se observa un comportamiento similar solo que el cambio es menos pronunciado y con algunos puntos que no siguen claramente la tendencia.



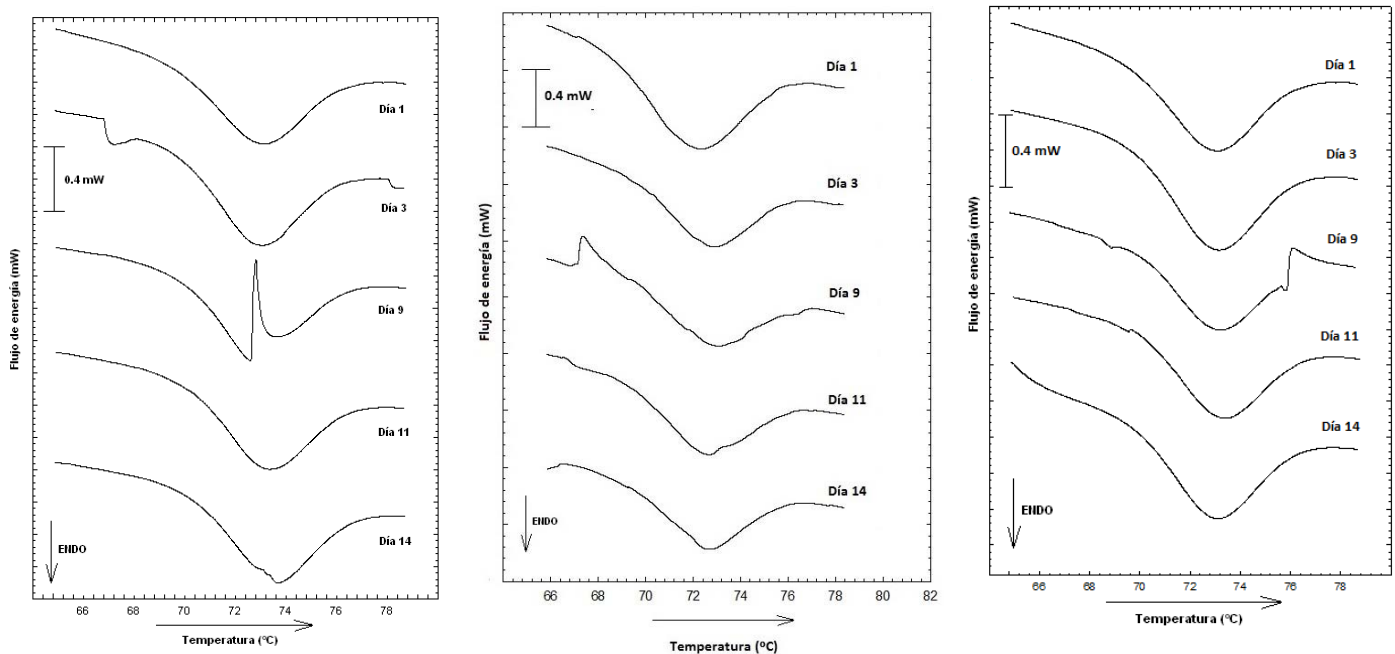
**Figura 10. Variación del parámetro  $n$  de la ecuación (4) obtenido del análisis de penetración de pan CC-TA (izquierda), BPH-TA (centro) y BP-6C (derecha) en los días 1, 3, 9, 11 y 14 de almacenamiento.**

### **Análisis térmico**

Los análisis térmicos han sido usados extensivamente para estudiar la retrogradación del almidón, así como el envejecimiento del pan (Gray & BeMiller, 2003). Se observa una endoterma atribuida al reordenamiento de la amilopectina que ha alcanzado su transición vítrea o su temperatura de fusión (Gray & BeMiller, 2003). La formación de la estructura debida a la retrogradación es asociada con el desarrollo de cristales (Jagannath, Jayarama & Somashekear, 1997) cuya formación es debida a la retrogradación del almidón estudiada por difracción de rayos X y calorimetría de barrido diferencial (Jagannath et al., 1997). La formación de cristales se considera como la asociación entre las cadenas de las fracciones de amilosa y amilopectina. La cantidad de red tridimensional formada entre las formas amorfas, i.e. gluten, y los cristales, i.e. almidón,

en el pan se incrementa con el tiempo de almacenamiento (Jagannath et al., 1997).

La Figura 11 muestra los termogramas de la miga de pan a diferentes tiempos; 1, 3, 9, 11 y 14 días. En todos los monitoreos, la transición endotérmica asociada a la retrogradación de la amilopectina, ocurre entre 69-76 °C. La temperatura de transición vítrea del pan se observa normalmente entre 50 y 60 °C (Hallberg & Chinachoti, 2002). La temperatura de gelatinización es aquella en la cual los gránulos de almidón pierden su estructura cristalina. Por lo tanto, una temperatura más alta indica un arreglo cristalino más estable (Montoya et al., 2012).



**Figura 11. Termogramas en los diferentes días de monitoreo. CC-TA (izquierda), BPH-TA (centro) y BP-6C (derecha).**

A las muestras se les eliminó el agua como tratamiento previo al análisis. Después se les añadió para aumentar la entalpía de fusión de los cristales de amilopectina y esto hace que su detección sea posible mucho antes durante el almacenamiento del pan que cuando no se adiciona agua (Czuchajowska & Pomeranz, 1989). Como ya se dijo antes, la pérdida de

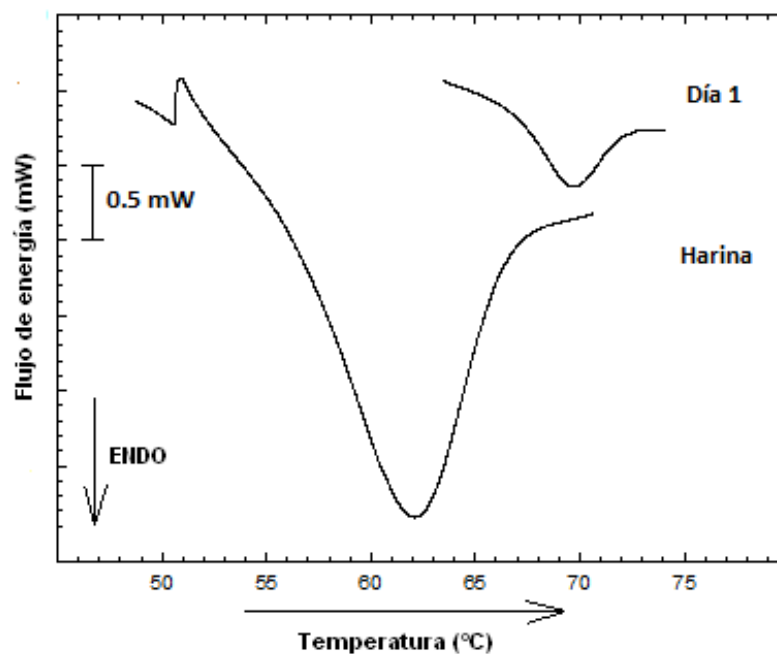


agua tiene un papel clave en la textura del pan durante el almacenamiento. Al eliminar totalmente el agua en cada uno de los tratamientos se está alterando la estructura del almidón, lo que podría haber ocasionado que todas las muestras fueran muy parecidas al momento de realizar la medición y por lo tanto no se estén detectando las diferencias esperadas.

**Tabla 5. Resultados de DSC para harina y pan a diferentes condiciones de almacenamiento**

	t (días)	$\Delta H$ (J/g)	$T_p$ (°C)	$T_o$ (°C)	$T_m$ (°C)
Harina		1.299	61.983	55.636	66.541
CC-TA	1	0.149	72.565	69.162	75.790
	3	0.122	73.222	70.286	75.969
	9	0.138	72.865	71.584	74.803
	11	0.146	73.101	69.951	75.969
	14	0.132	73.788	71.024	76.581
BPH-TA	1	0.149	72.565	69.162	75.790
	3	0.107	72.898	69.916	75.788
	9	0.150	72.819	69.634	75.617
	11	0.123	72.928	69.889	75.524
	14	0.126	72.824	69.952	75.721
BP-6C	1	0.149	72.565	69.162	75.790
	3	0.125	73.211	70.384	76.009
	9	0.107	73.251	71.728	75.894
	11	0.110	72.871	70.055	75.807
	14	0.149	72.940	69.178	76.009

Donde sí se observa diferencia es comparando el pan, cualquiera de los tratamientos y monitoreos, y la harina (Tabla 5 y Figura 12). La harina tiene de 84-88% (base seca) de almidón (Gray & BeMiller, 2003). Se encuentra una diferencia de más de una unidad para la entalpía y de 10 °C aproximadamente para Tonset (To), Tpico (Tp) y Toffset (Tm). En el horneado, el almidón compite por el agua con otros componentes, particularmente con el gluten. Las enzimas amilolíticas son activas para producir maltosa por la acción de la levadura, mientras que las enzimas proteolíticas actúan sobre las cadenas proteínicas. Por consiguiente, los productos de panadería difieren en el grado de gelatinización del almidón dependiendo del calor y las pérdidas de agua asociadas. En el pan la mayoría de los gránulos de almidón han perdido su birrefringencia (Dobraszczyk & Vincent, 2002b).



**Figura 12. Termogramas de la harina y el monitoreo del día uno.**

### ***Difracción de Rayos X***

Esta prueba fue solamente cualitativa para apreciar posibles cambios en la estructura de los cristales de almidón. La relación entre las estructuras

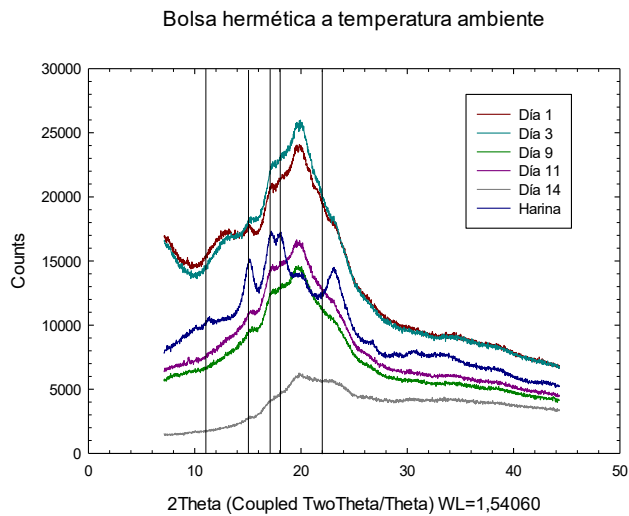
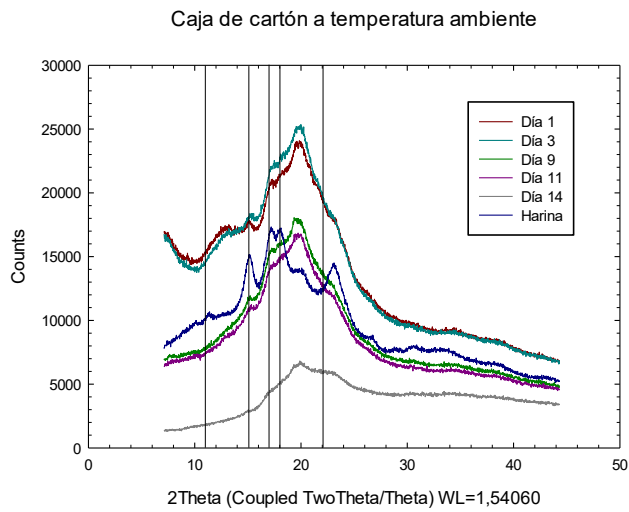
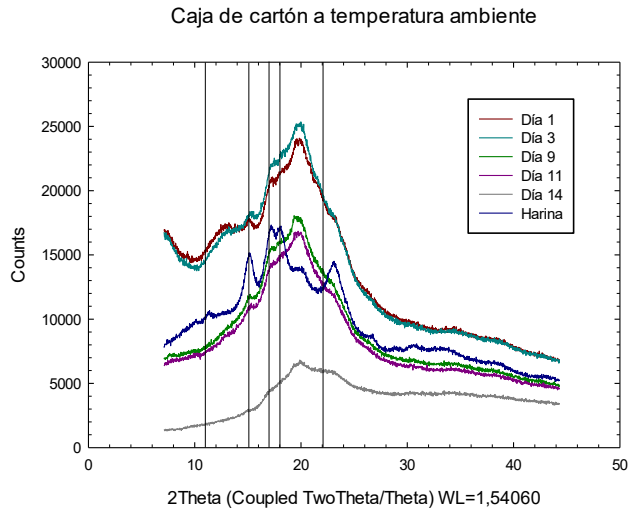
amorfos y cristalinos da como resultado un patrón de difracción de rayos X que puede ser usado para diferenciar almidones. Los cereales presentan un patrón tipo A, i.e. celda monoclinica, con las dobles hélices densamente empacadas en la celda unitaria (Rodríguez et al., 2001).

En la Figura 3 se muestran los difractogramas más comunes encontrados para los diferentes tipos de almidones. De acuerdo con esta representación se identificaron cuatro picos en la harina de trigo para los ángulos  $2\theta$  de 15, 17, 18 y 23°, que corresponden al patrón tipo A (Primo-Martin, van Nieuwenhuijzena, Hamera & van Vliet, 2007).

El patrón de difracción de rayos X en la miga de pan, en sus diferentes condiciones de almacenamiento, también mostró la existencia de cristalinidad pero los picos presentes tienen menor intensidad. Los picos se encuentran en 15, 17 y 20° (Figuras 13 y 14). El pico en 20°, el cual es el más intenso, se atribuye a la presencia de complejos amilosa-lípidos presentes en el patrón **cristalino tipo "V"** los cuales se forman durante el horneado. El nivel de formación de complejo depende de la clase y de la cantidad de agente formador de complejo, contenido de agua y condiciones de calentamiento (Zobel & Kulp, 1996).

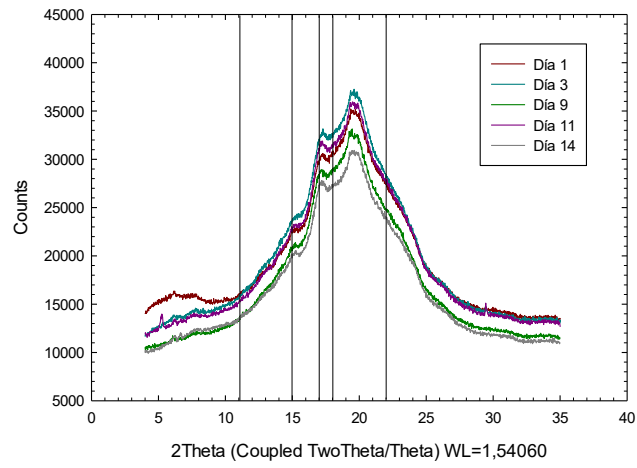
La retrogradación de la amilopectina en la miga conduce a la formación de **un patrón cristalino tipo "B" durante el endurecimiento del pan. El desarrollo de un patrón cristalino tipo "A" o "B" durante el endurecimiento del pan depende de la cantidad de agua presente. Un contenido de agua mayor de 43% lleva al desarrollo de un patrón tipo "B" mientras que un contenido de agua menor de 29% conduce a un patrón tipo "A"** (Primo-Martín et al., 2007).

Al hacer referencia a la Figura 15 se observa que los difractogramas de las Figuras 13 y 14 tienen un patrón muy semejante al de la amilopectina. De acuerdo con Primo-Martin et al. (2007), la miga de pan presenta un **patrón tipo "B" y esto** se puede ver en las figuras aunque el contenido de agua no haya sido estandarizado en las muestras analizadas.

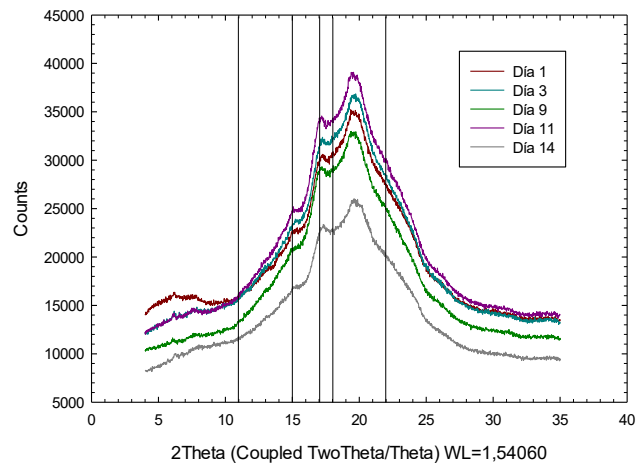


**Figura 13. Difractogramas de los diferentes tratamientos durante los días de monitoreo para Lote 1.**

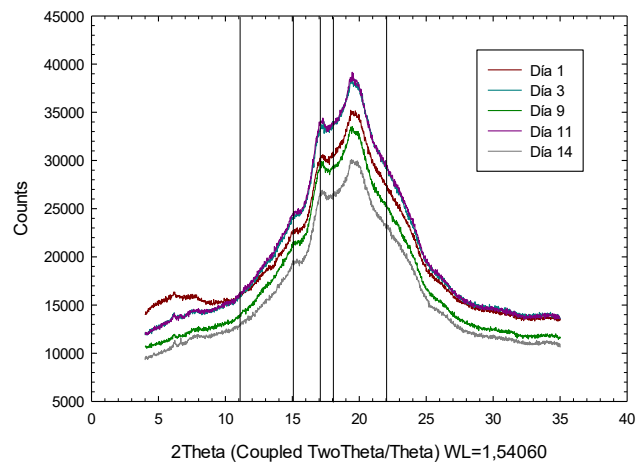
Caja de cartón a temperatura ambiente



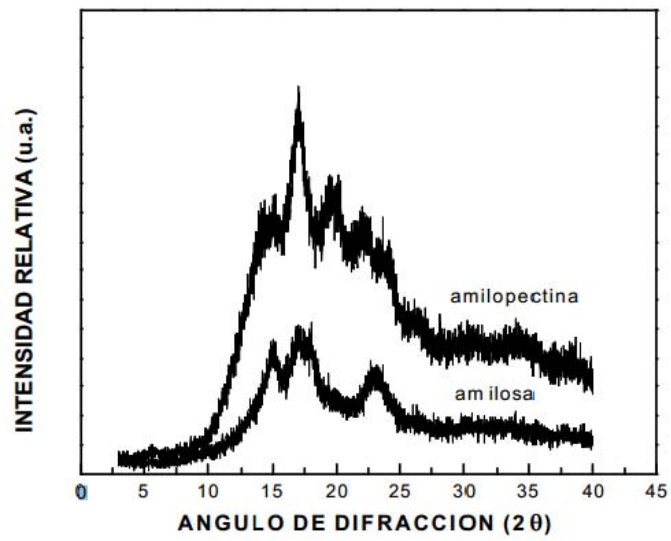
Bolsa de plástico a 6°C



Bolsa hermética a temperatura ambiente



**Figura 14. Difractogramas de los diferentes tratamientos durante los días de monitoreo para Lote 2.**



**Figura 15. Espectro de rayos X de amilosa y amilopectina (Rodríguez et al., 2001).**

## **CONCLUSIONES**

- Los cambios que se presentan en las propiedades mecánicas del pan de muerto guardan relación con la pérdida de humedad que ocurre a lo largo del almacenamiento. La Dureza como propiedad mecánica es un buen indicador de cambio y posiblemente deterioro en el pan de muerto. Sin embargo, almacenar el pan con barreras a la pérdida de humedad, e.g. bolsa de plástico, temperatura baja, ayuda a mantener con menos cambios sus propiedades mecánicas. La escala de tiempo sobre la cual se aprecian estos cambios depende de las condiciones de almacenamiento, pero se puede decir que dos semanas son suficientes para apreciarlos.
- Los resultados obtenidos en DSC y difracción de rayos X no son concluyentes para conocer el grado de recristalización del almidón debido al tratamiento que se le dio a las muestras previamente a su análisis. La retrogradación de la amilopectina juega un papel significativo, pero posiblemente no es el único factor involucrado en el endurecimiento de este tipo de pan de composición compleja. La formación de cristales de lípidos podría también tener algún efecto junto con la pérdida de humedad.
- La oxidación de lípidos no es observable bajo las condiciones de trabajo. No obstante, los datos obtenidos en la medición de oxidación de lípidos se atribuyen a los compuestos volátiles que dan aroma al pan detectados por la técnica de índice de Kreis.
- Estadísticamente causa los mismos efectos almacenar el pan en bolsa hermética a temperatura ambiente y en bolsa de plástico a 6 °C.
- La estabilidad y el endurecimiento del pan en general y del pan de muerto en particular son temas complejos que aún no son completamente comprendidos. No obstante con este trabajo se obtienen resultados que permiten entenderlos un poco mejor en el caso particular del pan de muerto y ofrecen datos científicos sobre algunos cambios fisicoquímicos y de estabilidad de este alimento tradicional mexicano.

## REFERENCIAS

1. American Association of Cereal Chemists (2000). Approved Methods of the AACC. Method 44-15A, 10th ed. The Association: St. Paul, MN.
2. AOAC (1995). Official methods of analysis (16th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
3. Badui, S. (2006). Química de los Alimentos (4ta ed.) México. Editorial Pearson, 20.
4. Baik, M.Y. & Chinachoti, P. (2000). Moisture redistribution and phase transitions during bread staling. *Cereal Chemistry* 77, 484-488.
5. Bechtel, W.G., Meisner, D.F. & Bradley, W.B. (1953). The effect of the crust on the staling of bread. *Cereal Chemistry* 30, 160 -168
6. Buléon, A., Gallant, D. J., Bouchet, B., Mouillec, G., D'Hulst, C., Kossmann, J. & Ball, S. (1997). Starches from A to C': *Chlamydomonas reinhardtii* as a model microbial system to investigate the biosynthesis of the plant amylopectin crystal. *Plant Physiology* 115, 949-957.
7. Czuchajowska, Z. & Pomeranz, Y. (1989). Differential scanning calorimetry, water activity, and moisture contents in crumb center and near-crust zones of bread during storage. *American Association of Cereal Chemists* 66 (4), 305-309.
8. Dobraszczyk, B. & Vincent, J. (2002a). Medida de las propiedades mecánicas de materiales alimentarios en relación con la textura: enfoque de materiales. En: Rosenthal, A. Eds *Textura de los alimentos: medida y percepción*. Zaragoza: Acribia, S.A., 99-146.
9. Dobraszczyk B. & Vincent J. (2002b). Alimentos basados en almidón. En: Rosenthal, A. Eds *Textura de los alimentos: medida y percepción*. Zaragoza: Acribia, S.A., 149-176.
10. Eliasson, A. C. (2012). Wheat starch structure and bread quality. En: Cauvain, S. P. *Breadmaking improving quality*. 2nd edition. UK. Woodhead Publishing Limited, 130-135.



11. Fadda, C., Sanguinetti, A.M., Del Caro, A., Collar, C. & Piga, A. (2014). Bread Staling: Updating the view. *Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety* 13, 473-492.
12. Gray, J.A. & BeMiller, J.N. (2003). Bread staling: molecular basis and control. *Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety* 2, 1-21.
13. Gutierrez, J. B. (2000). Bromatología. *Principios generales de alimentos*. Editorial Díaz Santos. Madrid, España. 314.
14. Hallberg, L.M. & Chincachoti, P. (2002). A Fresh Perspective on Staling: The Significance of Starch Recrystallization on the Firming of Bread. *Journal of Food Science* 67(3), 1092-1096.
15. Illanes, J. (2004) Envases flexibles plásticos: uso y aplicación en la industria alimentaria. (tesis de licenciatura). Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
16. James, C.S. (1999) Analytical Chemistry of Foods. Second Edition, ASPEN Publishers. New York.
17. Jagannath, J. H., Jayaraman, K. S. & Somashekar, R. (1997). Differential scanning calorimetry and wide-angle X-ray scattering studies of bread staling. *Journal of Applied Polymer Science* 67(9), 1597-1603.
18. Karim, A.A., Norziah, M.H. & Seow, C.C. (2000). Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry* 71, 19-20.
19. Keetels, C. J. A. M., Visser, K. A., van Vliet T., Jurgens, A., & Walstra, P. (1996). Structure and mechanics of starch bread. *Journal of Cereal Science* 24, 15-26.
20. Kirk R.S., Sawyer, R & Egan H. (1996). Composición y Análisis de Alimentos de Pearson. Segunda edición. Editorial CECSA. México.
21. Miles, M.J., Morris, V.J., Orford, P.D. & Ring, S.G. (1985). The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. *Carbohydrate Research* 135, 271-281.

22. Montoya, L., Giraldo, G. & Lucas, A. (2012). Caracterización física de harina de trigo y pan mediante determinación de calorimetría diferencial de barrido y análisis termogravimétrico. *Vitae* 19 (Supl. 1) S417-S419.
23. Pareyt, B., Finnie, S. M., Putseys, J. A. & Delcour, J. A. (2011). Lipids in bread making: Sources, interactions, and impact on bread quality. *Journal of Cereal Science* 54, 266-279.
24. Pearson, D. (1993). Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos; Acribia, S.A. Zaragoza, España.
25. Pico, J., Bernal, J. & Gómez, M. (2015). Wheat bread aroma compounds in crumb and crust: A review. *Food Research International* doi: [10.1016/j.foodres.2015.05.051](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.05.051)
26. Primo-Martín, C., van Nieuwenhuijzena, N.H., Hamera R.J., & van Vliet, T. (2007). Crystallinity changes in wheat starch during the bread-making process: Starch crystallinity in the bread crust. *Journal of Cereal Science* 45, 219–226.
27. Ribbota, P. D. & Le Bail, A. (2007). Thermo-physical assessment of bread during staling. *LWT Food Science and Technology* 40, 879–884.
28. Rodríguez, F. (2010). LA FLACA VINO, LA FLACA PASÓ, ¿Y EL PAN DE MUERTO? ¡LA FLACA SE LO COMIÓ!. Febrero 12, 2015, de Revista Claridades Agropecuarias de Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria Sitio web: <http://www.infoaserca.gob.mx/claridades/revistas/207/ca207-44.pdf>
29. Rodríguez, P., San Martín, M.E. & González de la Cruz, G. (2001). Calorimetría diferencial de barrido y rayos-x del almidón obtenido por nixtamalización fraccionada. *Superficies y Vacío* 13, 61-65.
30. Rogers, D. E., Zeleznak, K.J., Lai, C. S. & Hosney, R.C. (1988). Effect of native lipids, shortening, and bread moisture on bread firming. *Cereal Chemistry* 65(5), 398-401.
31. Ronda, F., Caballero, P.A., Quilez, J. & Roos, Y.H. (2011). Staling of frozen partly and fully baked breads. Study of the combined effect of amylopectin

- recrystallization and water content on bread firmness. *Journal of Cereal Science* 53, 97-103.
32. Roos, Y. H. (2001). Water Activity and Plasticization. En: Esquin M. & Robinson D.S., *Food Shelf Life Stability: Chemical, Biochemical, and Microbiological Changes*. CRC Press LLC., Chapter 1.
33. Szczesniak, A.S. (2002). Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference* 13, 215-225.
34. Tester, R. F., Karkalas, J. & Qi, X. (2004). Starch: composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science* 39, 151-165.
35. Zeleznak, K.J. & Hosney, R.C. (1986). The role of water in the retrogradation of wheat starch gels and bread crumb. *Cereal Chemistry* 63, 407- 41.
36. Zobel, H.F. & Kulp, K. (1996). The Staling Mechanism. In: Hebeda, R.E., Zobel, H.F. (Eds.), *Baked Goods Freshness: Technology, Evaluation and Inhibition of Staling*. Marcel Dekker, New York, 1- 64.

## ANEXO

### Análisis estadístico

- Humedad del pan registrado para pan almacenado en caja de cartón a temperatura ambiente, en bolsa de plástico hermética a temperatura ambiente y bolsa de plástico a 6 °C, en los días 1, 3, 9, 11 y 14.

Para determinar estadísticamente si el cambio de humedad registrado es afectado por el tipo de tratamiento y/o los días de monitoreo, se realizó un ANOVA, con un  $\alpha=0.05\%$

Planteamiento de hipótesis

H<sub>0</sub>: La humedad registrada no es afectada por los diferentes tratamientos y/o los días de monitoreo.

H<sub>1</sub>: La humedad registrada es afectada por los días de monitoreo.

H<sub>2</sub>: La humedad registrada es afectada por los diferentes tratamientos

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Días de monitoreo	66.54	16.63	3.19	3.84
Tratamientos	106.64	53.32	10.23	4.46
Error	41.70	5.21		
Total	214.87			

De acuerdo al análisis realizado, se acepta la hipótesis alternativa: La humedad registrada es afectada por los diferentes tratamientos.

Se realizó una prueba de DMS para saber entre que tratamientos es que existe diferencia.

X1 = Bolsa de plástico hermética a temperatura ambiente

X2 = Caja de cartón a temperatura ambiente

X3 = Bolsa de plástico a 6 °C

	X1	X2	X3
X1		5.65	0.02
X2			5.67

Diferencia de medias

T student (0.05, GLE: 8) = 2.306

CMe = 7.26

N = 3

DMS =  $t(\alpha, GLE) \sqrt{2CMe/N}$

DMS = 5.0732

Por lo tanto existe diferencia entre el pan almacenado en bolsa de plástico hermética y el que se almaceno en caja de cartón, así como entre el pan almacenado en bolsa de plástico a 6 °C y el que se almaceno en caja de cartón.

- El índice de Kreis registrado para el análisis de oxidación de lípidos para pan almacenado en caja de cartón a temperatura ambiente, en bolsa de plástico hermética a temperatura ambiente y bolsa de plástico a 6 °C, en los días 1, 3, 9, 11 y 14.

Para determinar estadísticamente que existe un cambio en los valores de índice de Kreis en los distintos tratamientos y/o los días de monitoreo, se **realizó un ANOVA, con un  $\alpha=0.05\%$**

Planteamiento de hipótesis

H<sub>0</sub>: La oxidación de lípidos no se ve afectada por los diferentes tratamientos y/o los días de monitoreo.

H<sub>1</sub>: La oxidación de lípidos es afectada por los días de monitoreo.

H<sub>2</sub>: La oxidación de lípidos es afectada por los diferentes tratamientos.

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Días de monitoreo	0.324	0.081	2.40	3.84
Tratamientos	0.115	0.057	1.70	4.46
Error	0.271	0.034		
Total	0.710			

De acuerdo al análisis realizado, se acepta la hipótesis nula: La oxidación de lípidos no se ve afectada por los diferentes tratamientos y/o los días de monitoreo.

- Pendientes (n) registradas para el análisis de punción para pan almacenado en caja de cartón a temperatura ambiente, en bolsa de plástico hermética a temperatura ambiente y bolsa de plástico a 6 °C, en los días 1, 3, 9, 11 y 14.

Para determinar estadísticamente que existe un cambio en las pendientes registradas en los distintos tratamientos y/o los días de monitoreo, se **realizó un ANOVA, con un  $\alpha=0.05\%$**

Planteamiento de hipótesis

H<sub>0</sub>: Las pendientes (n) registradas no son afectadas por los diferentes tratamientos y/o los días de monitoreo.

H<sub>1</sub>: Las pendientes (n) registradas no son afectadas por los días de monitoreo.

H<sub>2</sub>: Las pendientes (n) registradas no son afectadas por los diferentes tratamientos.

## ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Días de monitoreo	0.08	0.02	2.18	3.84
Tratamientos	0.09	0.04	5.19	4.46
Error	0.07	0.01		
Total	0.23			

De acuerdo con el análisis realizado, se acepta la hipótesis nula: Las pendientes (n) registradas no son afectadas por los diferentes tratamientos y/o los días de monitoreo.

- La entalpía de fusión registrada en el análisis de DSC para pan almacenado en caja de cartón a temperatura ambiente, en bolsa de plástico hermética a temperatura ambiente y bolsa de plástico a 6 °C, en los días 1, 3, 9, 11 y 14.

Para determinar estadísticamente que existe un cambio en las entalpías de fusión registradas en los distintos tratamientos y/o los días de monitoreo, se realizó un ANOVA, con un  $\alpha=0.05\%$

Planteamiento de hipótesis

H<sub>0</sub>: Las entalpías de fusión registradas no son afectadas por los diferentes tratamientos y/o los días de monitoreo.

H<sub>1</sub>: Las entalpías de fusión registradas no son afectadas por los días de monitoreo.

H<sub>2</sub>: Las entalpías de fusión registradas no son afectadas por los diferentes tratamientos

## ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Días de monitoreo	0.00155	0.00039	1.66	3.84
Tratamientos	0.00023	0.00012	0.50	4.46
Error	0.00187	0.00023		
Total	0.00365			

De acuerdo con el análisis realizado, se acepta la hipótesis nula: Las entalpías de fusión registradas no son afectadas por los diferentes tratamientos y/o los días de monitoreo.