

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



**“DETERMINACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DEL PAN DE MOLDE
LIBRE DE GLUTEN CON QUINUA (*Chenopodium quinoa*)”**

Presentada por:

DIEGO FERNANDO GARCÍA RAMÓN

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE EN TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS**

Lima - Perú

2021

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**“DETERMINACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DEL PAN DE MOLDE
LIBRE DE GLUTEN CON QUINUA (*Chenopodium quinoa*)”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO
DE MAESTRO MAGISTER SCIENTIAE**

Presentada por:

DIEGO FERNANDO GARCÍA RAMÓN

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Dra. Rosana Chirinos Gallardo

PRESIDENTE

M.S. Walter Francisco Salas Valerio

ASESOR

Dra. Ritva Repo Carrasco

MIEMBRO

Ph.D. Luis Fernando Vargas Delgado

MIEMBRO

DEDICATORIA

Ante todo, agradezco a Dios con mucho amor y gratitud por darme unos padres como: Lic. Rosario Ramón y Félix García ejemplo de honestidad, esfuerzo, perseverancia y por los deseos de superación que inculcaron en mí, a los que debo lo que soy, por sus consejos y sacrificios abnegados les estaré eternamente agradecido.

A mis hermanos Marco Vinicio, Diana Carolina, José Miguel, Jorge Luis, a mis sobrinos David, Daniel y Sofía por su apoyo incondicional.

A mi amada hija Sarita por ser mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más.

A mis compañeros, amigos presentes y pasados que sin esperar a cambio compartieron sus conocimientos y a todas las personas que me apoyaron durante este tiempo de estudios.

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi asesor M. S. Walter Francisco Salas Valerio por su disposición, paciencia, dedicación y por sus acertados comentarios y sugerencias en pos de esta investigación.

Al equipo técnico del Laboratorio de Panificación de la Universidad Nacional Agraria La Molina por su apoyo que brindaron y las facilidades para la elaboración de la presente tesis.

A los miembros del Comité Consejero: Dra. Rosana Chirinos Gallardo, Dra. Ritva Repo de Carrasco y Ph.D. Fernando Vargas por sus valiosas sugerencias, las cuales ayudaron a enriquecer la presente tesis.

A todos los docentes de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional Agraria La Molina, en la especialidad de Tecnología de Alimentos, por su enseñanza y amistad.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	14
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	17
	2.1 Aspectos generales.....	17
	2.2 Productos de panadería	20
	2.2.1 Clasificación.....	20
	2.2.2 Métodos de elaboración del pan de molde	20
	2.2.3 Ingredientes para la elaboración del pan de molde	21
	2.3 Panes sin gluten.....	27
	2.3.1 Generalidades	27
	2.3.2 Defectos asociados con panes sin gluten.....	27
	2.3.3 Mejoras de panes sin gluten	28
	2.4 Vida útil de productos de panadería.....	30
	2.4.1 Factores que afectan la vida útil.....	32
	2.4.2 Deterioro microbiológico	38
	2.4.3 Deterioro químico	39
	2.4.4 Deterioro físico.....	39
	2.5 Empaques en la industria de panificación.....	44
	2.5.1 Permeabilidad.....	46
	2.6 Determinación de la vida útil de alimentos “pan”	46
	2.6.1 Vida útil en alimentos empacados.....	47
	2.6.2 Modelamiento matemático para la cinética de deterioro	48
	2.6.3 Modelamiento matemático por ganancia o pérdida de humedad.....	50
	2.6.4 Evaluación sensorial para determinación de la vida útil.....	52
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	56
	3.1 Lugar de ejecución.....	56
	3.2 Muestras.....	56
	3.3 Materiales, reactivos y equipos.....	56
	3.3.1 Materiales	56
	3.3.2 Reactivos	57
	3.3.3 Equipos.....	57
	3.3.4 <i>Softwares</i> ocupados	57
	3.4 Métodos de análisis.....	57

3.4.1	Análisis químico proximal	57
3.4.2	Análisis durante el almacenamiento del producto terminado	58
3.5	Metodología experimental	60
3.5.1	Obtención del pan de molde sin gluten con quinua	61
3.5.2	Caracterización del producto final	61
3.5.3	Determinación de la vida útil utilizando la cinética de reacción.....	62
3.5.4	Modelamiento y predicción de la vida útil por pérdida de humedad	64
3.5.5	Determinación de la vida útil mediante análisis de supervivencia.....	68
3.6	Diseño experimental y análisis estadístico	70
3.6.1	Diseño experimental.....	70
3.6.2	Análisis estadístico.....	72
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	73
4.1	Caracterización del pan de molde sin gluten con quinua.....	73
4.1.1	Composición químico proximal	73
4.1.2	Volumen específico.....	74
4.1.3	Estructura de la miga.....	75
4.2	Vida útil determinada a partir de características fisico-químicas	77
4.3	Modelamiento matemático para la migración de humedad	88
4.3.1	Isoterma de sorción experimental del pan de molde sin gluten con quinua.....	88
4.3.2	Ajuste de isoterma de sorción a los diferentes modelos.....	89
4.3.3	Simulación de la pérdida de humedad durante el almacenamiento del pan de molde sin gluten en polipropileno y polietileno.....	91
4.3.4	Predicción del tiempo de vida útil mediante el modelamiento de pérdida de humedad	94
4.4	Vida útil determinada mediante análisis de supervivencia	95
4.4.1	Análisis sensorial.....	95
4.4.2	Determinación de los parámetros de la distribución Weibull	97
4.4.3	Determinación del tiempo de vida útil mediante análisis de supervivencia	97
4.4.4	Determinación de las funciones características de Weibull	99
V.	CONCLUSIONES	101
VI.	RECOMENDACIONES	102
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103
VIII.	ANEXOS	127

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición nutricional (g/100g) y valor energético (Kcal/100g)	18
Tabla 2: Contenidos promedios de aminoácidos esenciales en proteína de quinua y otros cereales (g/100g proteína)	18
Tabla 3: Comparación del contenido de aminoácidos esenciales del grano de quinua con las necesidades de los mismos para diferentes grupos de edad	19
Tabla 4: Composición promedio por 100 gramos de porción comestible de quinua y productos derivados	22
Tabla 5: Efecto de la suplementación de proteínas en productos sin gluten	30
Tabla 6: Principales modos de deterioro, factores ambientales críticos y vida útil por producto alimenticio	35
Tabla 7: Estados de componentes críticos en varias etapas de la vida del pan	37
Tabla 8: Efecto del procesamiento y envasado sobre la vida útil del pan	45
Tabla 9: Formulación del pan de molde sin gluten con quinua	61
Tabla 10: Modelos de isotermas de sorción de humedad	66
Tabla 11: Diseño experimental	71
Tabla 12: Composición proximal del pan de molde sin gluten con quinua	73
Tabla 13: Variación de la humedad de la miga (bs) del pan sin gluten con quinua durante el almacenamiento	77
Tabla 14: Variación de la a_w de la miga del pan sin gluten con quinua durante el almacenamiento	79
Tabla 15: Variación de la firmeza (kPa) de la miga del pan de molde sin gluten con quinua durante el almacenamiento	81
Tabla 16: Valores del recuento microbiológico (UFC/g) del pan sin gluten con quinua durante el almacenamiento	82
Tabla 17: Valores críticos para cada parámetro de la miga del pan de molde sin gluten con quinua	85
Tabla 18: Coeficientes de determinación (R^2) según el orden de la reacción	86
Tabla 19: Tiempo de vida útil para cada parámetro de la miga del pan de molde sin gluten con quinua	86
Tabla 20: Constantes de los modelos de isotermas de sorción, coeficiente de determinación y porcentaje del cuadrado medio del error del pan de molde sin gluten con quinua	90

Tabla 21: Condiciones experimentales usadas para validar la predicción de pérdida de humedad.....	91
Tabla 22: Evaluación de la humedad (bs) durante el almacenamiento para la validación del modelo matemático.....	92
Tabla 23: Parámetros para determinar el tiempo de vida útil del pan de molde sin gluten con quinua mediante el modelo matemático	94
Tabla 24: Aceptación promedio del pan de molde sin gluten con quinua por día de evaluación para el polipropileno y polietileno	96
Tabla 25: Obtención de los parámetros de Weibull	97
Tabla 26: Vida útil del pan de molde sin gluten con quinua mediante análisis de supervivencia.....	98

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Etapas de la vida de un producto alimenticio.	30
Figura 2: Límite que discrimina un producto aceptable de un inaceptable.	31
Figura 3: Estructuras moleculares presentes en la etapa de masa, pan fresco, pan duro y pan refrescado por calentamiento.	36
Figura 4: Esquema de los cinco tipos de isotermas.	42
Figura 5: Isoterma tipo II con tres zonas identificables A, B, C.	43
Figura 6: Ficha de evaluación sensorial.	59
Figura 7: Metodología experimental para determinar la vida útil del pan de molde sin gluten con quinua utilizando la cinética de reacción.	62
Figura 8: Metodología experimental para la predicción de la vida útil del pan de molde sin gluten con quinua, por pérdida de humedad.	65
Figura 9: Determinación del volumen específico.	75
Figura 10: Imágenes de la estructura alveolar de panes de molde sin gluten con quinua.	76
Figura 11: Regresión lineal entre los valores de aceptabilidad general y firmeza (kPa)...	84
Figura 12: Isoterma de sorción experimental del pan de molde sin gluten con quinua. ...	88
Figura 13: Isoterma de sorción experimental y ajustada con los diferentes modelos	89
Figura 14: Pérdida de humedad (bs) del pan de molde sin gluten con quinua en almacenamiento (25 °C y 80 por ciento HR), para la validación del modelo matemático envasado en polipropileno.	93
Figura 15: Pérdida de humedad (bs) del pan de molde sin gluten con quinua en almacenamiento (25 °C y 80 por ciento HR), para la validación del modelo matemático envasado en polietileno.	93
Figura 16: Función de distribución acumulativa o de fallo de panes de molde sin gluten con quinua envasados en polipropileno y polietileno.	99
Figura 17: Función de supervivencia o de confiabilidad de panes de molde sin gluten con quinua envasados en polipropileno y polietileno.	100

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: Análisis proximal del pan de molde sin gluten con quinua.....	127
ANEXO 2: Datos del análisis de estructura de la miga mediante <i>software</i> Image J.....	128
ANEXO 3: Análisis estadístico de humedad (bs) de la miga del pan de molde sin gluten con quinua envasados en polietileno y polipropileno.....	131
ANEXO 4: Análisis estadístico de a_w de la miga del pan de molde sin gluten con quinua envasados en polietileno y polipropileno.	132
ANEXO 5: Análisis estadístico de firmeza (kPa) de la miga del pan de molde sin gluten con quinua envasados en polipropileno y polietileno.....	133
ANEXO 6: Metodología para encontrar los valores críticos en panes de molde sin gluten con quinua.....	134
ANEXO 7: Variación de la humedad (bs), actividad de agua y firmeza (kPa) en panes sin gluten con quinua empacados en polipropileno y polietileno.	135
ANEXO 8: Cuadro de parámetros de los diferentes modelos matemáticos de isothermas de sorción: Coeficiente de determinación (R^2), coeficiente de correlación, estadístico Durbin Watson y valor P.....	138
ANEXO 9: Análisis estadístico de la pérdida de humedad (bs) de panes de molde sin gluten con quinua envasados en polipropileno y polietileno.....	139
ANEXO 10: Análisis estadístico de la evaluación sensorial de panes de molde sin gluten con quinua envasados en polipropileno y polietileno.....	140
ANEXO 11: Número de rechazos obtenidos en función del tiempo de panes de molde sin gluten con quinua envasados en polipropileno y polietileno. Si (aceptación del producto) y no (rechazo del producto).....	141

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo la determinación de la vida útil del pan de molde sin gluten con quinua (*Chenopodium quinoa*) utilizando los cambios de las propiedades físicas, químicas, microbiológicas y aceptabilidad general en el tiempo. El pan de molde sin gluten se elaboró con almidón de papa, harina de quinua, y se añadió propionato de calcio (como conservante). Finalmente, se envasaron en dos materiales (polietileno y polipropileno) y fueron almacenados durante 12 días a 25 °C y 80 por ciento de HR. Para determinar la vida útil se utilizaron las técnicas de: Cinética de reacción, modelamiento matemático por migración de humedad y el análisis de supervivencia. Se caracterizó el producto inicial obteniéndose un volumen específico de $1,77 \pm 0,006 \text{ cm}^3/\text{g}$, la estructura de la miga fue de $4,27 \pm 1,90 \text{ mm}^2$ para el área de la célula y $83,65 \pm 1,38$ para el número de alveolos/cm². Los cambios de humedad, a_w y textura siguieron la cinética de reacción de orden uno tanto para el pan sin gluten envasado en polipropileno como en el polietileno. La vida útil mediante la cinética de reacción estuvo limitada principalmente por la firmeza obteniéndose un valor de 3,15 días para el pan envasado en polipropileno y 1,88 días para el polietileno. Los materiales de empaque ($p < 0,05$) influyeron significativamente en la humedad, a_w y aceptabilidad general. El pan permaneció estable microbiológicamente durante seis días. En la simulación mediante el modelo matemático por migración de humedad que utilizó la isoterma de sorción del pan sin gluten, el modelo Oswin fue el que dio una mejor correlación con los datos experimentales ($R^2 = 0,94$ y error relativo medio 5,61 por ciento) y los resultados obtenidos de la vida útil fueron 50,26 días para el polipropileno y 43,53 días para el polietileno. Finalmente, la vida útil (SL) mediante el análisis de supervivencia fue de 4,47 días para el polipropileno y 3,89 días para el polietileno asumiendo una probabilidad de falla del 50 por ciento.

Palabras Clave: Granos andinos peruanos, pan sin gluten, vida útil, análisis de supervivencia, modelamiento.

ABSTRACT

The research aimed to determine the shelf life of gluten-free sliced bread with quinoa (*Chenopodium quinoa*) using changes in physical, chemical, microbiological properties and general acceptability over time. The gluten-free sliced bread was made with potato starch, quinoa flour, and calcium propionate was added (as a preservative). Finally, they were packaged in two materials (polyethylene and polypropylene) and were stored for 12 days at 25 °C and 80 percent RH. To determine the shelf life the techniques of: Reaction kinetics, mathematical modeling by moisture migration and survival analysis were used. The initial product was characterized obtaining a specific volume of $1,77 \pm 0,006 \text{ cm}^3/\text{g}$, the structure of the crumb was $4,27 \pm 1,90 \text{ mm}^2$ for the cell area and $83,65 \pm 1,38$ for the number of alveoli/cm². The changes in moisture, aw and texture followed the reaction kinetics of order one for both the gluten-free bread packed in polypropylene and in polyethylene. The shelf life by reaction kinetics was mainly limited by firmness, obtaining a value of 3,15 days for bread packed in polypropylene and 1,88 days for polyethylene. Packaging materials ($p < 0,05$) significantly influenced moisture, aw, and general acceptability. The bread remained microbiologically stable for six days. In the simulation using the mathematical model by moisture migration that used the sorption isotherm of gluten-free bread, the Oswin model was the one that gave the best correlation with the experimental data ($R^2 = 0,94$ and mean relative error 5,61 per percent) and the results obtained for the shelf life were 50,26 days for polypropylene and 43,53 days for polyethylene. Finally, the shelf life (SL) by survival analysis was 4,47 days for polypropylene and 3,89 days for polyethylene assuming a 50 percent probability of failure.

Keywords: Peruvian Andean grains, gluten-free bread, shelf life, survival analysis, modeling

II. INTRODUCCIÓN

El pan es el producto obtenido por una masa cocida y esponjosa de harina de trigo, sal, agua y levadura, perfectamente horneada. Además, se puede incorporar ocasionalmente grasa y otros mejoradores. El principal problema del pan es la pérdida de humedad de la miga (endurecimiento), ablandamiento de la corteza y cambio en su sabor, dichos fenómenos son conocidos como “envejecimiento”, causado fundamentalmente por la retrogradación del almidón, teniendo como consecuencia la pérdida de la aceptación del producto ante el consumidor, además debido a sus características fisico-químicas es susceptible de ser deteriorado por hongos, levaduras y bacterias (Best y Appleton 2013).

El reemplazo de gluten es hoy en día uno de los desafíos para la ciencia y la tecnología de los alimentos, ya que una dieta sin gluten de por vida es esencial para los pacientes con enteropatía sensible al gluten o enfermedad celíaca, la que se caracteriza por la mala absorción de nutrientes en el intestino delgado después de la ingestión de prolaminas del trigo y también de otras especies de *Triticum* como el centeno, la cebada, la avena y sus variedades cruzadas (Turabi *et al.* 2008). Gujral *et al.* (2012), los celíacos constituyen del uno al tres por ciento de la población mundial, en Argentina y Brasil una incidencia 0,25 a 0,5 por ciento, y 1,2 por ciento en Perú (Baldera *et al.* 2020). FEDE (2016), el mercado mundial de productos sin gluten alcanzó los 3200 millones de dólares, y se prevé que para el 2020 este mercado crezca hasta los 4400 millones de dólares, además una tendencia de crecimiento del mercado mundial del 5 por ciento anual hasta el 2021. En América Latina las ventas en el 2013 fueron de 94,8 millones de dólares y se proyecta que ascenderá a 127,3 millones de dólares para el 2018. Las importaciones de productos sin gluten en el Perú en el 2015 fueron realizadas principalmente por diez empresas y su tendencia es a la alza (Hobbs *et al.* 2014).

Hay muchas recetas de pan convencionales sin gluten; sin embargo, la tecnología actual de productos de panadería sin gluten se basa solo en almidones de diferentes orígenes botánicos, como el maíz y el arroz. Desafortunadamente esos productos sin gluten a menudo tienen

mala calidad: menor volumen de pan, mala textura (calcárea y desmenuzable) y poca sensación en la boca debido a la falta de elasticidad del gluten y bajo valor nutricional. La calidad y la vida útil de los panes sin gluten se pueden mejorar mediante el uso de granos andinos como la quinua, tara, chíá, maca, sachá inchi y camu camu. En lo que respecta a la quinua, este grano andino originario de los Andes genera una atención especial debido a la calidad y valor nutricional de sus proteínas, las cuales son una importante fuente de aminoácidos esenciales (tiene un perfil de aminoácidos comparable al de la caseína). Además posee un buen balance de ácidos grasos insaturados y fosfolípidos de alta calidad nutricional que se mantienen estables durante el almacenamiento debido a la presencia de vitamina E en la misma quinua, aparte de fibras dietéticas (Coda *et al.* 2010; Rizzello *et al.* 2016). De igual manera los granos andinos muestran actividades antioxidantes, antiinflamatorias y anti carcinogénicas la que resulta positiva para productos peruanos.

La preparación de la quinua no escapa de las alteraciones químicas que se producen en toda proteína, cuyo tipo y magnitud dependen de diversos parámetros: variedad de quinua, condiciones del procesamiento (temperatura, pH y presencia de oxígeno). Los resultados de estas reacciones pueden alterar el valor biológico de la proteína. Por ejemplo: 1) transformación de los aminoácidos esenciales en compuestos derivados, que no pueden ser utilizados por el organismo; 2) disminución de la digestibilidad por uniones intra y intercatenarias y 3) destrucción de aminoácidos esenciales (Ayala *et al.* 1999).

La determinación del tiempo de vida útil del pan sin gluten con quinua será útil para promover la producción a nivel industrial y de este modo abasteciendo a las personas con enfermedad celíaca de un producto de calidad. También la población encontrará trabajo sustentable en el procesamiento de esta fuente vegetal.

El interés en conocer la duración del pan sin gluten de granos andinos debido a la ausencia de este componente en la formulación del pan, su comportamiento en anaquel será distinto en ese sentido se plantea investigar en función del tiempo de almacenamiento si es que mantienen las características físico-químicas y aceptabilidad del pan sin gluten con quinua (*Chenopodium quinoa*).

El objetivo general de la presente investigación fue determinar la vida útil del pan sin gluten con quinua (*Chenopodium quinoa*) a condiciones normales de almacenamiento.

La investigación tuvo como objetivos específicos:

- Determinar la vida útil del pan sin gluten con quinua (*Chenopodium quinoa*), envasados en bolsas de polietileno y polipropileno, mediante cinética de reacción.
- Establecer un modelado matemático capaz de predecir la vida útil por migración de humedad del pan sin gluten con quinua (*Chenopodium quinoa*).
- Determinar el tiempo de vida útil del pan sin gluten con quinua (*Chenopodium quinoa*) envasados en bolsas de polietileno y polipropileno, utilizando análisis de supervivencia.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS GENERALES

El pan ha sido visto como un alimento básico, con un consumo casi omnipresente en todo el mundo, porque constituye una fuente importante de energía y proporciona la mayoría de los nutrientes y micronutrientes importantes. Sin embargo, los cambios en los patrones de alimentación del consumidor han resultado en la modificación de la percepción del pan de un alimento básico a un producto nutritivo, saludable y funcional. A saber, el pan no solo contiene nutrientes tradicionales, sino que también proporciona otros compuestos que son beneficiosos para la salud y el bienestar. La investigación también ha introducido nuevas harinas y granos tradicionales como: el amaranto, la quinua, el sorgo y el alforfón para mejorar el valor nutricional de los productos horneados y también para satisfacer las demandas y requisitos de grupos específicos con necesidades alimenticias especiales (Preedy *et al.* 2011).

El desarrollo de panes sin gluten ha atraído la atención mundial desde el reconocimiento y diagnóstico de la enfermedad celíaca. El crecimiento del mercado, ha aumentado la investigación en panes sin gluten con cualidades similares a las convencionales (Machado Alencar *et al.* 2015; Demirkesen *et al.* 2014). Granos andinos como la quinua (*Chenopodium quinua*), amaranto (*Amaranthus caudatus*) y alforfón (*Fagopyrum esculentum*) son alternativas prometedoras, ya que pueden contribuir a mejorar la estructura de la miga, formación de alvéolos y disminución de los niveles de dureza en panes sin gluten. Además, tienen una alta capacidad de retención de agua y son capaces de hinchar sus gránulos de almidón para limitar la pérdida de agua (Tsatsaragkou *et al.* 2016). Otro factor que llama la atención sobre estos granos es su beneficio nutricional.

El grano de quinua no es un alimento excepcionalmente alto en proteínas; sin embargo, el verdadero valor es debido a que poseen una mayor proporción de aminoácidos esenciales para la alimentación humana que los cereales tradicionales, especialmente lisina, principal

aminoácido deficitario en cereales (Friedman 1996). Por lo tanto, las harinas disponibles localmente pueden estudiarse como un sustituto o como integrador de la harina de trigo para hacer pan.

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) es una planta autóctona dicotiledónea de los Andes que crece a una altitud superior a 4000 msnm. Todavía se cultiva ampliamente en América del Sur, y se considera un excelente grano andino por sus características nutricionales (Tabla 1). Su composición de aminoácidos (Tabla 2) es similar a la de la proteína de la leche y cercana al equilibrio ideal de proteínas recomendado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (Koziol 1992).

Tabla 1: Composición nutricional (g/100g) y valor energético (Kcal/100g)

	Quinua	Trigo integral	Cebada (grano entero)	Arroz (no escarificado)	Maíz (grano entero)
Valor calórico	350	309	299	353	338
Proteína bruta	12 - 15,5	11,2- 14	10,6 - 12	7,4 - 8	9,2 - 13
Grasa bruta	5,0 - 10	2,0	1,0 - 2,1	1,0 - 2,2	3,8
Carbohidratos	61,0 - 74,0	59,0 - 59,4	57,7 - 70,0	74,6 - 78,0	65,2 - 66,0
Humedad	10,0 - 13,0	13,2	11,7 - 13,0	13,1 - 15,0	12,5 - 15,0
Cenizas totales	2,4 - 3,5	2,0	2,0 - 3,0	1,0	2,0

FUENTE: Adaptado de Chauhan *et al.* (1992).

En la Tabla 2 se observa que la proteína de quinua contiene más lisina (6,1 g/100g) y metionina + cisteína (4,8 g/100g) en comparación con las proteínas del trigo, maíz y arroz.

Tabla 2: Contenidos promedios de aminoácidos esenciales en proteína de quinua y otros cereales (g/100g proteína)

Aminoácido	Quinua	Arroz	Maíz	Trigo	Carne	Pescado	Leche	Patrón FAO
	g aminoácidos/100g proteína							
Arginina	6,8	6,9	4,2	4,5	6,4	5,1	3,7	5
Fenilalanina + Tirosina	4	5	4,7	4,8	4,1	3,7	1,4	6
Histidina	2,8	2,1	2,6	2	3,5		2,7	3
Isoleucina	7,1	4,1	4	4,2	5,2	5,1	10	4
Leucina	6,8	8,2	12,5	6,8	8,2	7,5	6,5	7
Lisina	7,4	3,8	2,9	2,6	8,7	8,8	7,9	5,5
Metionina + Cisteína	4,8	2,2	2	1,4	2,5	2,9	2,5	3,5
Treonina	4,5	3,8	3,8	2,8	4,4	4,3	4,7	4
Triptófano	1,3	1,1	0,7	1,2	1,2	1	1,4	1

FUENTE: Adaptado de Tapia (1979); Koziol (1992); ERPE *et al.* (2001).

Desde el punto de vista de la nutrición humana las proteínas pueden clasificarse en biológicamente completas e incompletas (Thompson *et al.* 2008). La FAO ha señalado que una proteína es biológicamente completa cuando contiene todos los aminoácidos esenciales en una cantidad igual o superior a la establecida para cada aminoácido en una proteína de referencia o patrón, e incompleta cuando al menos uno de los aminoácidos esenciales se encuentra en una concentración inferior a la establecida para la proteína patrón, ya que esta situación limita la síntesis proteica no pudiendo ser utilizadas completamente por el organismo (Repo-Carrasco *et al.* 2007).

La calidad de la proteína está determinada por la cantidad de aminoácidos esenciales y por su digestibilidad que se aproxima al 80 por ciento; los valores máximos para este parámetro, cercanos al 100 por ciento son para la carne y la leche (Tabla 3) (Kent y Amos 1986).

Para evaluar la calidad de proteína se emplean los siguientes parámetros.

- **Puntaje:** Es la relación entre los miligramos de aminoácidos recomendados para cada grupo de edad y los miligramos de aminoácidos que aporta el grano de quinua.
- **Índice de calidad proteica:** Es la relación de los requerimientos de proteína con el aminoácido limitante en sujetos de la misma edad.

Tabla 3: Comparación del contenido de aminoácidos esenciales del grano de quinua con las necesidades de los mismos para diferentes grupos de edad

Aminoácidos esenciales	Lactantes ^[1]	Preescolares (2-5 años) ^[1]	Escolares (10-12 años) ^[1]	Adultos ^[1]	Quinua ^[2]
	mg/g proteína				
Isoleucina	46	28	28	13	70,5
Leucina	93	66	44	19	68,3
Lisina	66	58	44	16	74
Metionina + Cisteína	42	25	22	17	22
Fenilalanina + Tirosina	72	63	22	19	52,5
Treonina	43	34	28	9	45,1
Triptófano	17	11	9	5	13
Valina	55	35	25	13	34
Histidina	26	19	19	16	28,2
Total (mg/g proteína)	460	339	241	127	407,6

FUENTE: Adaptado de ^[1]FAO *et al.* (1985); ^[2]Romo *et al.* (2006).

2.2 PRODUCTOS DE PANADERÍA

2.2.1 Clasificación

Para Gray y Bemiller (2003), el pan es un sistema coloidal compuesto con fases heterogéneas continuas (red elástica de moléculas reticuladas de gluten y por moléculas de polímeros de almidón principalmente amilosa, junto con moléculas lipídicas polares) y discontinuas (gránulos de almidón atrapados, gelatinizados, hinchados y deformados). Según la Norma Técnica Peruana 206.004 (NTP 2016), el pan de molde es el producto obtenido por la cocción en moldes de una masa fermentada hecha básicamente con: harina de trigo, agua potable, sal, azúcar, levadura y manteca, como también pudiendo tener otros ingredientes y aditivos permitidos.

Según la Norma Técnica Peruana 206.004 (NTP 2016) el grado de extracción de la harina utilizada el pan de molde se clasifica en:

- **PAN INTEGRAL:** Es el pan de molde elaborado con harina integral.
- **PAN BLANCO:** Es el pan de molde elaborado con harina, con un máximo de 82 por ciento de extracción.
- **PAN CORRIENTE:** Es el pan de molde elaborado con harina de más de 82 por ciento hasta 86 por ciento de extracción.
- **PAN TOSTADO DE MOLDE:** Es el producto que como producto anterior tiene el pan de molde y que ha sido tostado (o secado) bajo condiciones controladas.

2.2.2 Métodos de elaboración del pan de molde

Carrera (1995) menciona que los principales métodos de elaboración actualmente son:

- Método de masa directa, consiste en que todos los componentes de la masa son mezclados y combinados en una sola etapa. En el mezclado se trata de obtener una masa suave con un óptimo de elasticidad. La masa se fermenta de 2 a 4 horas y ocasionalmente se realiza el "punch" durante este periodo.
- Método de esponja, consiste en que el volumen de harina a utilizar es dividido en dos partes: una de ellas es mezclada con levadura y agua dejándole fermentar cierto tiempo a esta masa se le llama "esponja", la cual se mezcla con la otra cantidad de

harina y los otros ingredientes (masa). La cantidad de harina a utilizar en la "esponja" y en la masa está regulada por el tipo de harina y el tipo de producto a elaborar.

2.2.3 Ingredientes para la elaboración del pan de molde

Los ingredientes básicos en la elaboración del pan de molde son: la harina de trigo, el agua, la levadura y la sal. Si faltara uno de estos ingredientes no se podría elaborar el pan de molde debido a que son los responsables de las características, apariencia, textura y sabor del pan. En la producción de pan a partir de harina sin gluten se considera tecnológicamente crítico debido a la ausencia de gluten, el cual tiene un impacto en las características de formación. Las formulaciones de panes sin gluten además de las harinas y almidones de diferentes fuentes implican principalmente la incorporación de otras proteínas que no contienen gluten, hidrocoloides y sus combinaciones (Houben *et al.* 2012). Estos ingredientes pueden imitar las propiedades viscoelásticas de gluten y puede resultar en una mejor estructura, sensación en la boca, aceptabilidad y vida útil de estos productos (Gallagher *et al.* 2003). A continuación, se describen cada uno de los ingredientes:

a. Harina de Quinoa

La harina de quinoa es el producto obtenido de la molienda de la semilla disecada, sana y limpia de *Chenopodium quinua*. A los productos obtenidos de la molienda de tubérculos, raíces y de granos diferentes al trigo le corresponde la denominación de "harina" seguida del nombre del vegetal de que provienen. A este tipo de harinas se les denomina sucedáneas según NTP (2016).

Tabla 4: Composición promedio por 100 gramos de porción comestible de quinua y productos derivados

Componente	Grano integral	Harina de quinua	Afrecho de quinua	Quinua cocida	Hojuelas de quinua
Humedad (g)	11,50	13,70	14,10	79,00	7,00
Proteína (g)	13,60	9,10	10,70	2,80	8,50
Carbohidratos (g)	66,60	72,10	65,90	16,30	78,60
Grasas (g)	5,80	2,60	4,50	1,30	3,70
Fibra (g)	1,90	3,10	8,40	0,70	3,80
Cenizas (g)	2,50	2,35	4,80	0,60	2,20
Energía (Kcal)	374	341	347	101	374

FUENTE: Adaptado de Collazos *et al.* (2014).

- **Características de la harina de quinua**

La composición proximal del grano de quinua y de los productos derivados se presentó en la Tabla 4, se puede observar que los procesos utilizados tanto para la remoción de la cubierta como su preparación modifican su composición química (Stikic *et al.* 2012). La harina de quinua generalmente es gruesa de color blanco opaco con relativo contenido de saponina (máximo 0,12 por ciento), granulometría que varía entre 0,5 a 1,0 micras y el pH varía de acuerdo a la variedad de 6,0 a 7,0 (Bergesse *et al.* 2015).

La harina de quinua aporta cantidades significativas de minerales como: fósforo 61 mg/100g, calcio 181 mg/100g, así como hierro 3,70 mg/100g (García *et al.* 2009). También aportan valores apreciables de ácidos grasos poliinsaturados de la serie $\omega 6$ y $\omega 3$. Dentro de estos el que más se destaca es el linoleico (C18:2) y representa casi el 50 por ciento del total de ácidos grasos, le sigue en orden decreciente el ácido linolénico (C18:3) con un 17 por ciento (Bergesse *et al.* 2015).

El tamaño del gránulo de almidón depende de la especie vegetal. El trigo, el maíz y el arroz, presentan tamaños superiores a las 5 μm y pueden llegar hasta 40 μm o más (Badui 2006). En el caso de la quinua los gránulos son muy pequeños, menores a 2 μm . Utilizando calorimetría de barrido diferencial (DSC), se estableció que el proceso de gelatinización

consumió 2 J/g y gelatinizaba entre 55 y 70 °C. Aunque pueden encontrarse diferencias significativas entre las variedades de quinua (Lindeboom *et al.* 2005).

Estudios comparativos de pasting entre almidón de quinua y otros almidones comunes, mostraron claras diferencias en el comportamiento reológico. Fundamentalmente llamó la atención la escasa caída de la viscosidad luego del máximo pico. Tal reducción se asoció con la ruptura de los granos de almidón luego de absorber suficiente agua durante la cocción. Estos resultados también contrastaron con los de harinas provenientes de cereales comunes en donde hay una clara disminución, luego del pico de máxima viscosidad (Crosbie y Ross 2007). El almidón de quinua presenta propiedades muy interesantes para su aplicación en la industria alimenticia (Ahamed *et al.* 1996).

b. Agua

El agua es un ingrediente fundamental en la industria de panificación, es el que hace posible la formación de la masa, en la fermentación, el sabor y frescura final del pan. En la formación de la masa disuelve todos los ingredientes, permitiendo una total incorporación de ellos. También hidrata los almidones que junto con el gluten dan por resultado una masa plástica y elástica (Calvel 1983). En la elaboración del pan de molde se recomienda la utilización de agua medianamente dura (no más de 120 ppm de dureza). Esta tiene suficientes sales minerales que refuerzan el gluten y sirven como nutrientes para la levadura mejorando de esta forma la producción (Bessonova y Mironova 2015).

Se ha considerado que la dureza (mg de CaCO₃ en un litro) y el pH del agua afectan la calidad de la levadura en la fabricación de productos horneados. Los minerales contenidos en agua con dureza media (100 - 200 mg/L) interactúan de manera óptima con el gluten. En general, son nutrientes requeridos para procesos biotecnológicos de los microorganismos (Sinani *et al.* 2014). Se encontraron relaciones directas entre dureza del agua y 1) tiempo de estabilidad de la masa de pan (Stefan *et al.* 2016), 2) volumen específico y 3) suavidad del pan (Yuru y Xianlun 2011); mientras que se encontró correlación inversa entre la dureza del agua y el grado de ablandamiento de la masa de pan (Stefan *et al.* 2016). El uso del agua con un pH demasiado alto (por ejemplo 8,0) puede llevar el pH de la masa lejos de los valores óptimos (5,0 – 6,0) para actividades enzimáticas (por ejemplo amilasas) y microbianas (Sinani *et al.* 2014). Por el contrario, el uso de agua ligeramente ácida (pH = 5,0 - 6,0)

favorece el crecimiento de la levadura y en consecuencia provoca un aumento del volumen de pan (Yuru y Xianlun 2011).

Morales (1994) menciona que el agua controla:

- La temperatura de la masa.
- La fermentación para disolver la levadura y que comience a actuar.
- Las propiedades de plasticidad y extensibilidad de la masa por la acción del gas producido en la fermentación.
- El sabor, la frescura y la presencia del agua hace posible la porosidad y el buen sabor del pan. Una masa con poca agua daría un producto seco y quebradizo.

c. Levadura

La levadura que se utiliza en panificación es la *Saccharomyces Cerevisiae* que tolera un rango de pH entre 3 y 10, pero el pH ideal es entre 4,5 a 6,5 (Chaucheyras *et al.* 1997). Su temperatura óptima de crecimiento varía entre los 22 y 29 °C y no sobrevive a más de 53 °C. La levadura convierte a la harina cruda en un producto ligero que al hornearse se hace digerible y da el agradable sabor característico del pan. Para que actúe necesita del agua, también necesita azúcar y nitrógeno que se encuentra en la harina. De la misma forma las sales minerales que se encuentran en la harina y el agua. La insuficiencia de levadura produce un pan de molde agujereado y de volumen reducido. En cambio, el exceso de levadura provoca un hinchamiento exagerado de la masa, una miga frágil y descolorida así como un desagradable sabor a levadura (Vera 1995).

Hegarty (1995) indica que las principales funciones de la levadura son las siguientes:

- Producción de sustancias que modifican las estructuras de las proteínas de la harina (gluten), al reducir la fermentación se pierde la elasticidad de la masa, la plasticidad se adquiere por la rotura de enlaces intermoleculares.
- Desarrollo del aroma y sabor mediante la producción de alcoholes, aromas típicos de panificación, éteres, ácido acético, butírico y láctico.
- La más importante es la subida de la masa debido a la producción de CO₂ y alcohol etílico en forma de etanol (C₂H₅OH) por la transformación de la glucosa.

d. Sal

Calaveras (1996), las funciones que cumple la sal son: dar sabor al producto, fortalecer el gluten, permitiendo a la masa contraerse y estabilizar el gluten de la harina facilitando así conseguir una pieza bien formada con miga que no se desmorone al cortar, controla la velocidad de la fermentación y coadyuva a mantener la humedad de la pieza una vez que esta ha salido del horno. El agregado de sal a las masas se encuentra entre valores de 1 - 2,2 por ciento sobre el peso total de la harina. Además, la sal restringe la actividad de las bacterias productoras de ácidos y controla la acción de la levadura regulando el consumo de azúcares y dando una mejor corteza.

e. Azúcar

El azúcar es el alimento para la levadura ayudándolo en el metabolismo y permitiendo la acción de las enzimas. La levadura ataca a los azúcares fermentables (dextrosa y levulosa) que están presentes en la harina, como la maltosa que es formada en la hidrólisis del almidón, por eso su importancia en la disposición de azúcares para producir etanol y CO₂ que sirva para elevar la masa. Además del dulzor tiene la propiedad de retener humedad permitiendo conservar el pan por más tiempo por la propiedad higroscópica que permite absorber humedad. Ayuda a una rápida formación de la corteza del pan debido a la caramelización por una parte y a la reacción de Maillard entre azúcares reductores (maltosa, dextrosa y levulosa) y las proteínas de la harina, esto permite temperaturas de horno más bajas, rápida cocción y mayor cantidad de agua retenida en el producto final (Quaglia 1991).

f. Grasas

Son sustancias que se emplean para la elaboración de productos horneados mejorando la característica de las masas, se reparten en finas capas entre los hilos del gluten de la masa produciendo un efecto lubricante y da una masa suave, así como la uniformidad de la miga es más pronunciada. La incorporación de la grasa como ingrediente reblandece la miga por lo que el pan mejora su vida útil además mejora la presentación del pan con buena coloración y buen sabor. Se añade en el amasado en pequeñas cantidades y se buscan principalmente las de bajo punto de fusión (Quaglia 1991).

g. Aditivos del pan

En la elaboración del pan de molde estará permitido el uso de los siguientes aditivos según la Norma 206.004 (NTP 2016), el mismo que será verificado por la autoridad sanitaria, así como también la verificación de su pureza:

- **Agentes oxidantes**

Como azodicarbornida (45 mg/Kg) o yodato de K y Ca (75 mg/Kg). La oxidación establece una estructura estable en el sistema de la masa.

- **Emulsificantes**

Como los glicéridos (etoxilados), glicéridos (mono y di) de ácidos grasos dietéticos, lecitina, esteres poliglicerol, esteres propilenglicol de ácidos grasos. Compuestos que sorbitan, aceite de soya, ácido dactílico-2-estearol y sus sales de Ca y Na, todas en proporción PCF (Prácticas Correctas de Fabricación). Los emulsificantes favorecen la mezcla de las moléculas de agua y grasa en la formación de la masa.

- **Enriquecedores**

Como tiamina (dosis mínima 4,4 mg/Kg), riboflavina (dosis mínima 2,6 mg/Kg), niacina (dosis mínima 35,0 mg/Kg) y hierro (dosis mínima 28,0 mg/Kg). Son aditivos que permiten mejorar el nivel nutritivo del pan.

- **Conservadores**

Como ácido propiónico y sus sales de Ca y Na (4000 mg/kg), ácido sórbico y sus sales de Ca, K y Na (1500 mg/Kg). Estos aditivos prolongan el tiempo de vida útil del producto.

- **Colorantes y saborizantes**

Los saborizantes naturales y artificiales permitidos por la autoridad sanitaria y colorantes de acuerdo a la Norma 209.134 (NTN 1988). Sirven para dar color y aromatizar al producto como también dar mejor calidad al producto.

La hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), aditivo tradicionalmente usado como mejorador de volumen influye de manera positiva en la textura de la miga. Bárcenas y Rosell (2007), la adición de HPMC retarda el envejecimiento del pan precocido durante su almacenamiento a bajas temperaturas (2 °C) y además se observa el mismo efecto en el pan horneado completamente.

2.3 PANES SIN GLUTEN

2.3.1 Generalidades

Los panes sin gluten se caracterizan por una receta heterogénea siendo una combinación de almidón y harina, así como: Proteínas, fibras, grasas, hidrocoloides y enzimas específicas. Además, muestran características pobres de miga y corteza, también una pobre sensación en el sabor. Los panes sin gluten carecen principalmente de nutrientes y experimentan un envejecimiento rápido (Moroni *et al.* 2009).

Los tecnólogos de cereales para intentar aproximarse a un pan de calidad aceptable han llevado a cabo estudios incorporando aditivos e ingredientes nutritivos. El valor nutricional de estos panes se ha mejorado al agregar granos enteros tales como: Amaranto, trigo sarraceno, quinua, arroz integral y sorgo (Alvarez-Jubete *et al.* 2009). Las propiedades viscoelásticas de los panes sin gluten han sido mejoradas por la adición de hidrocoloides tales como: hidroxipropilmetilcelulosa, goma xantano, goma guar, carboximetilcelulosa (Ward y Andon 2002). Uso de microorganismos como: *Aspergillus oryzae* y *Bacillus stearothermophilus* en pan de arroz sin gluten mejoraron su calidad (Hamada *et al.* 2013).

2.3.2 Defectos asociados con panes sin gluten

La eliminación del gluten se traduce en los defectos que aparecen en los productos en términos de atributos de calidad, características nutricionales y aceptación del consumidor. El pan sin gluten es deficiente en la producción y retención de gas resultando valores bajos en su volumen. La falta de gluten también conduce a la formación de una masa líquida que a su vez resulta en pan horneado con una textura desmenuzable, color deficiente y defectos de calidad postbaking (Hager *et al.* 2012). Comercialmente los productos sin gluten disponibles son basados en arroz el cual tiene un bajo contenido de proteínas y son deficientes en lisina. El carbohidrato y el contenido de grasa del pan sin gluten es alto

mientras que el contenido de proteína es bajo. El contenido de proteínas en panes sin gluten analizados varió de 0,90 a 15,5 g/100g, la grasa varió de 2,00 a 26,1 g/100g, y los carbohidratos entre 68,4 a 92,9 g/100g (Matos y Rosell 2013).

2.3.3 Mejoras de panes sin gluten

Dado que los productos sin gluten no coinciden con los que contienen gluten en términos de atributos tecnológicos y de calidad, es un requisito previo adoptar técnicas que garanticen su aceptabilidad para la población que consume productos sin gluten. Enfoques composicionales implican modificación y/o incorporación de ingredientes adicionales para contrarrestar las deficiencias del gluten.

- **Adición de almidón**

El almidón es formador de la textura primaria y agente de estructuras en sistemas sin gluten. Las maltodextrinas con diferentes equivalentes de dextrosa (DE) fueron evaluadas para mejorar la estabilidad y la calidad de productos de panadería sin gluten, los resultados indicaron que las maltodextrinas con DE entre 18 y 21,8 influyeron positivamente en el volumen del pan y tuvieron influencia en el endurecimiento de la miga. Valores de maltodextrinas DE más altas redujo efectivamente la entalpía de recristalización de la amilopectina. También se realizaron investigaciones con almidones químicamente modificados como el hidroxipropil fosfato (HDP) y el adipato acetilado (ADA), los resultados mostraron un aumento del volumen de panes sin gluten y la estructura de la miga se volvió más elástica. La dureza y la masticabilidad de la miga disminuyó dependiendo del nivel de almidón modificado agregado (Witczak *et al.* 2010).

El almidón pre gelatinizado de tapioca se utilizó para panes a base de harina de arroz como agente formador de la estructura, permitió obtener masas parecidas y menos susceptibles al cizallamiento. Además, el volumen del pan y la suavidad de la miga se vio influenciada positivamente (Pongjaruvat *et al.* 2014).

- **Adición de hidrocoloides y otros aditivos**

Son heteropolisacáridos con alto peso molecular utilizados principalmente para modificar las propiedades reológicas (flujo, deformación, textura y firmeza). La goma de xantano (XG)

y carboximetilcelulosa (CMC) se agregaron a pan plano sin gluten a base de harina de arroz. El aumento de la concentración de CMC produjo células de gas más grandes, lo que resultó en una mejor porosidad de la miga acompañado de un alto rendimiento de la masa. El mejor rendimiento del pan fue con la fórmula que contenía 15 g/kg XG y 10 g/kg CMC respectivamente (Mohammadi *et al.* 2015). Además utilizando goma xantano en niveles de 1 a 3 por ciento mejora calidad de pan sin gluten con maíz (Ács *et al.* 1996).

También se han empleado aditivos alimentarios (ácido láctico, ácido cítrico, ácido acético y fosfato monosódico) teniendo un efecto positivo en la textura. Adición de 0,2 por ciento de ácido acético aumentó el volumen de masa en un 10 por ciento. El volumen más alto alcanzado en los panes se produjo en presencia de fosfato monosódico (Blanco *et al.* 2011).

- **Aplicación de enzimas**

Como las harinas sin gluten carecen de funcionalidad característica de la formación de redes, sus características en el horneado podrían mejorarse mediante la acción enzimática como la *transglutaminasa* (TGasa). Moore *et al.* (2008) investigaron la efectividad de TGasa para mejorar las características de cocción de las harinas sin gluten sin la adición de hidrocoloides, los resultados establecieron que TGasa mejoraban la funcionalidad de las harinas sin gluten. La estructura y textura de panes sin gluten (trigo sarraceno y arroz integral) se vieron mejorados debido a aumento de la pseudoplasticidad de la masa y la capacidad de retención de agua en los panes también aumento. La adición de 1 µ/g de TGasa mejoró la textura de la miga. Finalmente, se observó una mayor concentración de TGasa tiende a aumentar la dureza de miga (Mohammadi *et al.* 2015).

- **Incorporación de fibras**

El diseño de panes sin gluten enriquecidos con fibra se ha enfrentado a la resistencia de los consumidores para aceptar panes con volumen reducido y miga dura acompañado de ciertos sabores (Collar *et al.* 2007). Fibras dietéticas de maíz y avena produjeron panes con mayor volumen y suavidad de la miga en comparación con el control sin fibra en pan sin gluten. La adición de 3 g/100g de fibra dietética mejoro la apariencia de la corteza y la miga, además las puntuaciones de aceptabilidad fueron altas (Sabanis *et al.* 2009).

- **Incorporación de proteínas**

El enriquecimiento de panes sin gluten con proteínas junto con la mejora del valor nutricional, mejora la estructura y las características de calidad de productos sin gluten como la textura (Matos y Rosell 2013). La Tabla 5 resume las proteínas utilizadas recientemente en formulaciones de panes sin gluten.

Tabla 5: Efecto de la suplementación de proteínas en productos sin gluten

Tipo de proteína	Efecto en los productos sin gluten	Referencias
Albúmina	Mayor volumen de masa, mejor retención de la célula de gas	Nozawa, Ito, y Arai 2016
Harina de quinua	Mayor elasticidad de la masa, estructura de masa mejorada, mayor contenido de fibra	Turkut, Cakmak, Kumcuoglu, & Tavman 2016
Harina de alforfón descascarada	Propiedades mejoradas para hornear	Mariotti <i>et al.</i> 2013
Harina de trigo sarraceno inflado	Difusión limitada de agua de la miga, reducción de la pérdida de peso	Mariotti <i>et al.</i> 2013

FUENTE: Adaptado de Naqash *et al.* (2017).

2.4 VIDA ÚTIL DE PRODUCTOS DE PANADERÍA

La vida útil se define como el tiempo en condiciones de almacenamiento definidas durante el cual los alimentos permanecen seguros y conservan las características: sensoriales, químicas, físicas y biológicas deseadas; así como también cumplen con cualquier declaración de etiqueta (Lanzocco *et al.* 2010). También puede ser definida como un tiempo finito después de la producción y el envasado durante el cual el producto alimenticio conserva un nivel de calidad requerido bajo ciertas condiciones de almacenamiento bien definidas, estas permiten que el producto sea aceptable por el consumidor (Nicoli 2012).

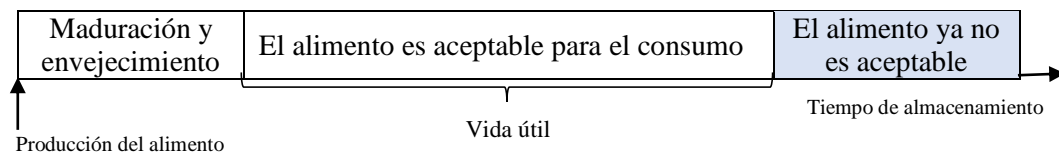


Figura 1: Etapas de la vida de un producto alimenticio.

FUENTE: Adaptado de Nicoli (2012).

Para conocer la vida útil esperada de un alimento se deben comprender: las reacciones microbiológicas, enzimáticas y fisico-químicas que se producen simultáneamente en un

alimento determinado, identificar los mecanismos responsables del deterioro o la pérdida de características deseables como: textura, sabor, olor o nutrientes, así como implementar modelos para estimar el período en que mantendrá un nivel aceptable de calidad alimentaria desde una perspectiva de seguridad y calidad (Singh y Cadwallader 2002).

- **Límite de aceptabilidad**

El límite de aceptabilidad es definido como el nivel de calidad que discrimina a los productos aceptables para el consumo de los que no lo son (Lanzocco *et al.* 2010). Además se considera que este valor afecta dramáticamente la vida útil del producto (Guerra *et al.* 2008).

Básicamente, hay dos posibilidades para que un producto volverse inaceptable durante el almacenamiento. El primero es relevante al desarrollo de un riesgo de insatisfacción del consumidor debido a: la apariencia de baja calidad, baja sensibilidad sensorial y nutricional del producto, así como el segundo está asociado principalmente con problemas de seguridad que potencialmente conllevan un riesgo para el consumidor salud. La inaceptabilidad debido a la ingesta de alimentos en condiciones inseguras es muy crítica y puede ser el resultado de la aparición de microbios patógenos, contaminantes que migran del envase y compuestos tóxicos formados durante el almacenamiento (Manzocco 2016).

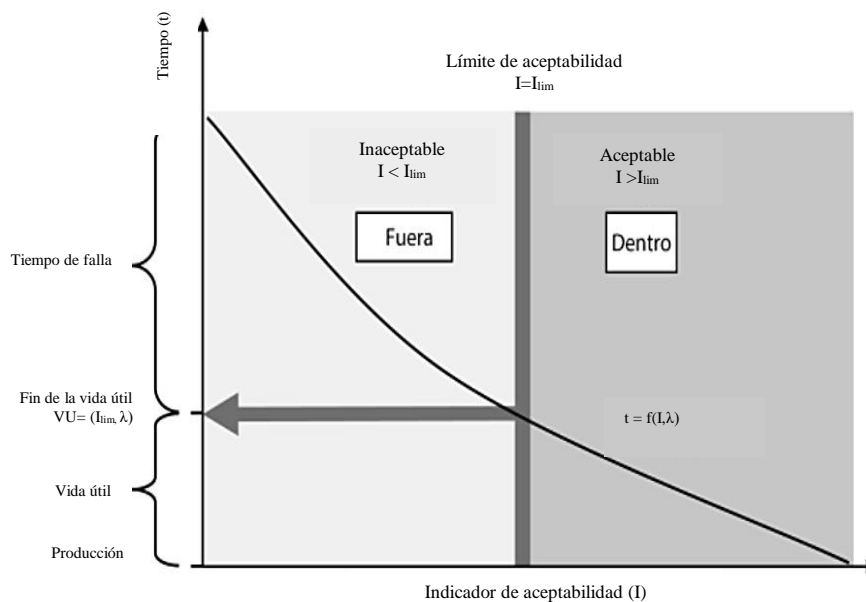


Figura 2: Límite que discrimina un producto aceptable de un inaceptable.

FUENTE: Adaptado de Manzocco (2016).

Cualquier producto que supere durante el almacenamiento los límites de seguridad indicados por la regulación está fuera de los estándares básicos requeridos para consumo, ha llegado al final de su "vida segura". En la Figura 2 se muestran dos períodos durante el almacenamiento de un alimento perecedero: un período durante el cual el producto es seguro y un período donde no lo es. Sería un error considerar el límite que discrimina la condición segura de la no segura como límite de aceptabilidad. La vida útil es un problema de calidad no relacionado con la seguridad, por lo que es un período incluido en el tiempo de seguridad en el cual el producto conserva características de calidad aceptables. La vida útil del producto debe terminar antes de que surja cualquier riesgo para la salud del consumidor, siendo la vida útil mucho más corta que la vida segura en los alimentos (Manzocco 2016). Muchos de los productos alimenticios se vuelven inaceptables con solo un 20 o 30 por ciento de cambio del valor inicial del atributo de calidad (Labuza 1984). Giménez *et al* (2007) mencionaron el fin de la vida útil en panes, cuando el rechazo por los consumidores es mayor al 25 por ciento.

La naturaleza del límite de aceptabilidad depende en sí de la insatisfacción del consumidor el cual implica defectos sensoriales o nutricionales y es decisión del investigador asignar el límite correspondiente. Cualquier elección de un límite de aceptabilidad sin un conocimiento claro de su relación con la insatisfacción del consumidor podría inducir errores en las estimaciones de la vida útil. La insatisfacción sensorial del consumidor se puede identificar usando metodología de análisis de supervivencia (Gacula y Kubala, 1975; Gacula y Shingh 1984; Hough *et al.* 2003).

Por lo general, se considera que un alimento es perecible (almacenado apropiadamente) si tiene una vida en anaquel por debajo de los 14 días, limitada en la mayoría de los casos por deterioro bioquímico o microbiológico. Un alimento semi-perecible tiene una vida en anaquel hasta de 6 meses, mientras que los alimentos más estables (no perecibles) en anaquel como la mayoría de alimentos enlatados duran desde los 6 meses hasta los 3 años (o más) bajo condiciones apropiadas de almacenamiento (Labuza 2000).

2.4.1 Factores que afectan la vida útil

Labuza (2000) indica que la vida en útil depende de cuatro factores principales: formulación, procesamiento, empaque y condiciones de almacenamiento. Los parámetros más

importantes son: composición del gas (oxígeno, dióxido de carbono, gases inertes, etileno, etc.), humedad relativa, presión o estrés mecánico, luz y temperatura. Estos parámetros son dependientes tanto del empaque como de las condiciones de almacenamiento.

a. Efecto de la formulación

Los ingredientes empleados en la formulación de un pan influyen de manera directa en su conservación. Se ha reportado que la calidad y la vida útil de panes sin gluten pueden mejorar mediante el uso de granos andinos; Turkut *et al.* (2016) demostraron que utilizando un 25 por ciento de harina de quinua presentó mayor puntaje de aceptabilidad sensorial y una textura más suave. Toro *et al.* (2014), en la investigación de determinación de la vida en anaquel de pan sin gluten a base de harina de quinua y almidón de papa envasados en bolsas de polietileno y polipropileno tuvo una vida útil de 3,27 días y 4,13 días a 20 °C y 89 por ciento de humedad relativa.

Por otro lado, los panes procedentes de harinas integrales son ricos en fibra, las mismas que para un individuo son saludables. Tsatsaragkou *et al.* (2016) señalaron que las fibras mejoran la estructura y dan como resultado una porosidad de miga densa, por lo que es posible conseguir productos sabrosos con migas suaves.

La masa madre permite mejorar la frescura, la estructura de la miga, la sensación en la boca y la suavidad de todo tipo de productos horneados. Torrieri *et al.* (2014) utilizaron bacterias productoras de exopolisacáridos (EPS) en muestras de pan 30 g/100g masa fermentada, los resultados demostraron un mayor volumen, mayor contenido de humedad y mejores propiedades mecánicas durante el almacenamiento.

b. Efecto de la temperatura

En la práctica, los alimentos están expuestos frecuentemente a fluctuaciones de temperatura significativas durante el transporte y el almacenamiento antes de la entrega al consumidor. Calligaris *et al.* (2007) encontraron un modelo matemático, que utiliza la relación entre los peróxidos y la aceptabilidad sensorial con la dependencia de la temperatura de la formación de peróxido, para calcular la vida útil de las galletas empaquetadas en una película de polipropileno metalizado y almacenadas a diferentes temperaturas.

c. Efecto del envasado

Matz (1989), el empaque debe cumplir con las características de protección contra contaminantes que están constante o intermitentemente presentes en el ambiente, así como daños físicos. La mayoría de productos de panadería deben estar protegidos de la ganancia o pérdida de humedad después de ser colocados en sus empaques. Si esto no es realizado, los productos crujientes pueden volverse suaves rápidamente y los productos suaves pueden volverse duros y de firmeza indeseable.

Una tecnología bien probada y simple que puede ser útil para prolongar la vida útil de los productos de panadería es la utilización de atmósferas modificadas, Sanguinetti *et al.* (2016) demostraron que muestras almacenadas a 4 °C extendieron su vida útil hasta los 42 días y el crecimiento de microorganismos patógenos y alterantes se mantuvo dentro de los límites permisibles. También la aplicación de envases activos es un enfoque prometedor para aumentar la vida útil del pan sin la adición de agentes químicos, Noshirvani *et al.* (2017) señalaron que utilizando revestimientos activos (1 y 2 por ciento NPs de ZnO) en rebanadas de pan, se conservaron 15 días sin crecimiento de hongos.

Licciardello *et al.* (2014) demostraron que los paquetes de fondo termoformado (no se dan detalles sobre los materiales de embalaje) con diferentes espesores (de 0,225 a 0,275 mm) y que contenían 70 por ciento de N₂: 30 por ciento de mezcla de gases de CO₂ son efectivos en la conservación del pan de trigo duro en rodajas.

Dethmers (1979) citado por Vergara (2012), los factores que tienen influencia sobre la vida útil de los panes de molde son:

- Factores de carácter intrínsecos: Materia prima, formulación y composición del producto, proceso de manufactura, actividad de agua, humedad relativa, acidez y valor pH, disponibilidad de oxígeno y potencial redox.
- Factores de carácter extrínseco: Procesamiento, higiene, materiales y sistema de empaque, distribución, almacenamiento y presentación en el punto de venta.

La interacción de los factores intrínsecos y extrínsecos puede tanto inhibir o estimular un número de procesos que limitan la vida útil de los productos de panadería y pueden estar

clasificados como: microbiológicos, químicos y físicos. Los principales modos de deterioro del pan se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6: Principales modos de deterioro, factores ambientales críticos y vida útil por producto alimenticio

Alimento	Modo de deterioro	Factores críticos	Vida útil promedio
Productos frescos de panadería	Crecimiento microbiano, pérdida de humedad que causa endurecimiento, rancidez oxidativa	Oxígeno, temperatura, humedad	2 días (pan), 7 días (pastel)
Cereales de desayuno	Rancidez, pérdida de nitidez, pérdida de vitaminas, rotura de partículas	Humedad, temperatura	6-18 meses
Pasta	Cambios en la textura, envejecimiento, pérdida de vitaminas y proteínas	Temperatura demasiado alta o baja, humedad	Pasta con sólidos de huevo 9–36 meses; macarrones y espagueti 24–48 meses

FUENTE: Adaptado de Labuza y Szybist (1999).

Zobel y Kulp (1996) propusieron un modelo de panificación, que se centró principalmente en la retrogradación del almidón sobre el envejecimiento del pan (Figura 3). En la etapa de preparación de la masa la fracción de amilopectina posee una estructura con regiones cristalinas. Durante la cocción, la cristalinidad de la amilopectina se altera, lo que permite que ocurra la gelatinización e hinchazón de los gránulos. Con estos cambios en el gránulo, porciones de las moléculas de amilopectina tienen la libertad de expandirse hacia el espacio intergranular. En el pan fresco, las moléculas de amilopectina pierden su estructura cristalina, además algunas moléculas de amilosa y amilopectina se filtran del gránulo. En este punto, algunas amilasas forman complejos con lípidos y/o agregados entre sí. El pan duro muestra la reorganización de la amilopectina en una estructura más cristalina durante el envejecimiento. Esta reorganización de amilopectina imparte rigidez tanto al gránulo hinchado como al material intergranular al actuar como enlaces cruzados físicos en la estructura general del gel.

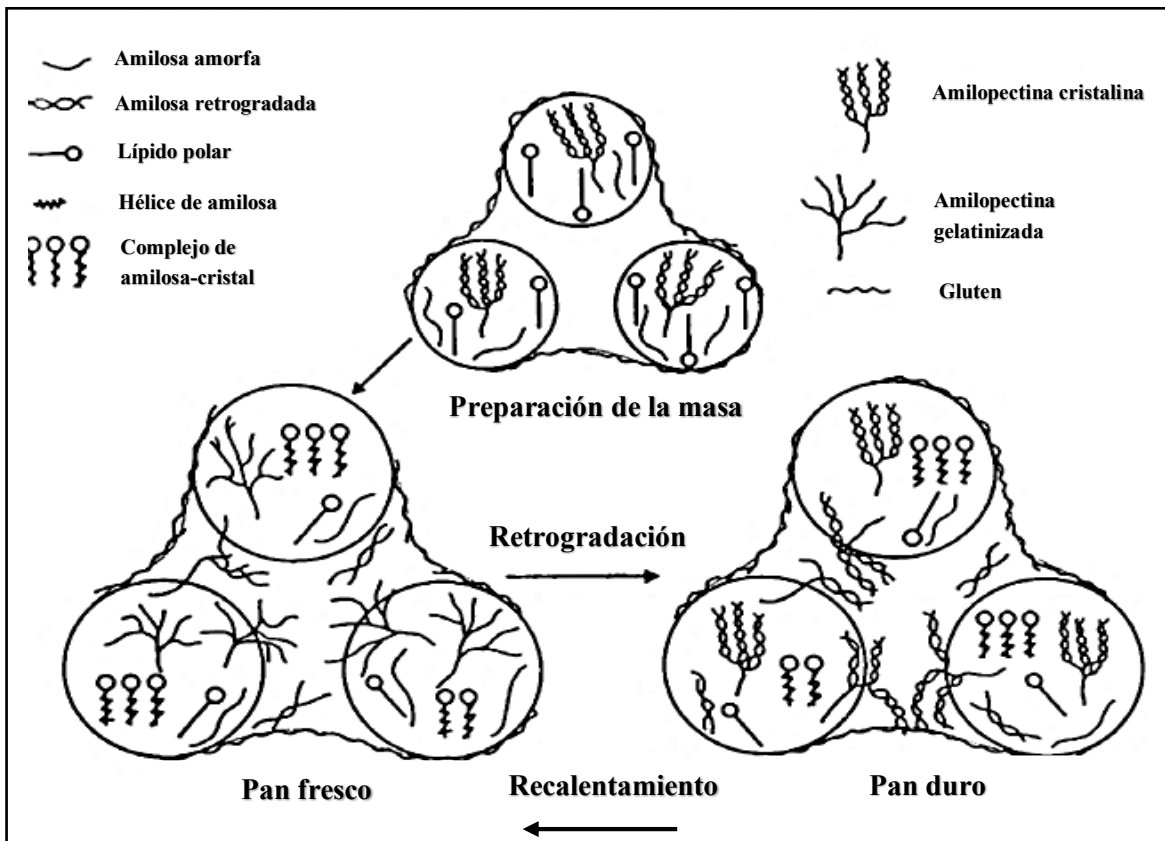


Figura 3: Estructuras moleculares presentes en la etapa de masa, pan fresco, pan duro y pan refresco por calentamiento.

FUENTE: Adaptado de Zobel y Kulp (1996).

Los estados del almidón, el gluten y los lípidos en las tres etapas principales de la vida del pan se resumen en la Tabla 7.

Tabla 7: Estados de componentes críticos en varias etapas de la vida del pan

Etapa	Almidón	Gluten	Lípidos
Masa	Gránulos intactos hidratados	Hidratado, adherido en una red continua en forma de fibrillas con gránulos de almidón	Libres, algunos quizás en interacciones proteínas - lípidos
	Amilopectina parcialmente cristalina		
	Amilosa amorfa		
Pan recién horneado pero enfriado	Algunos intactos La mayoría gelatinizado y/o deformado/colapsado	Desnaturalizado Reticulado Posible formación de asociaciones de almidón y gluten (fibrillas de almidón y gluten) durante la cocción	Algunos complejados con amilosa (dentro y fuera de los gránulos) Algunos libres Posibles interacciones proteínas - lípidos
	Interacciones almidón - almidón tanto dentro como entre gránulos		
	Estructura de doble hélice de la amilopectina parcialmente pérdida Quizás algunas moléculas de amilopectina parcial o completamente fuera de los gránulos Algunas fracciones de la amilosa se lixiviaron parcial o completamente de los gránulos, y algunos de ellos se encuentran en la fase continua, donde es en gran medida insoluble Algunos formando complejos con moléculas de lípidos		
Pan envejecido	Amilopectina retrogradada dentro de gránulos gelatinizados Algo quizás fuera de los gránulos	Pérdida del agua de hidratación de la red de gluten a través de la transferencia al almidón, lo que permite la cristalización de la amilopectina	Sin cambios del pan recién horneado
	Amilosa retrogradada Algunos complejados con lípidos Probablemente haya cambiado poco del pan recién horneado		

FUENTE: Adaptado de Gray y Bemiller (2003).

2.4.2 Deterioro microbiológico

El deterioro por mohos es común en la industria de la panadería y en muchos casos los que determinan la vida útil de productos horneados de alta humedad y humedad intermedia (Smith *et al.* 2004). Si bien, el horneado es una etapa en donde se eliminan tanto mohos como levaduras, una vez que el producto ha salido del horno su manipulación debe de ser bajo condiciones estériles ya que la contaminación por mohos se produce a través del aire, por lo que estos productos tienen una vida útil de solo unos días a temperatura ambiente (Stanley *et al.* 2007). Las pérdidas por mohos varían entre un 1 a 5 por ciento dependiendo de la estación, tipo de producto y método de procesado. Tratándose, por tanto, de un serio problema para esta industria y para el consumidor (Smith *et al.* 2004).

Breidt y Fleming (1998) desarrollaron un modelo matemático que consiste en un sistema de ecuaciones diferenciales no lineales que describe el crecimiento de cultivos celulares bacterianos competidores (*Lactococcus lactis* y *Listeria monocytogenes* usando como medio un caldo de verduras). El modelo también predijo los valores de los parámetros que afectaron el crecimiento y muerte de las poblaciones competidoras.

Daifas *et al.* (1999) utilizaron una prueba de desafío para determinar la seguridad de un producto de panadería de alta humedad, empaquetado bajo atmósferas modificadas. Los estudios de desafío se realizaron en bollos al estilo inglés (a_w : 0,99 y pH: 6,5) inoculados después del horneado con *Clostridium botulinum* tipo A y esporas proteolíticas tipo B. Los estudios confirmaron que productos de panadería de alta humedad, si están contaminados con esporas de *C. botulinum* ya sea antes o después de la cocción, podrían representar un peligro para la salud pública.

Si bien los modelos predictivos pueden proporcionar un medio rentable para minimizar las pruebas microbiológicas en la determinación de la vida útil, puede haber ocasiones en que las predicciones del modelo pueden no ser precisas, debido a las respuestas microbianas inconsistentes y las variaciones en los medios de crecimiento. La investigación ha demostrado que esta es la razón por la cual algunos modelos matemáticos no predicen con precisión la supervivencia y el crecimiento de patógenos en los productos alimenticios (Koutsoumanis 2001).

2.4.3 Deterioro químico

La formación del sabor a rancio está referido a un cambio amplio en el sistema físico-químico del pan que afecta la crocantez de la corteza, las características de textura de la miga, aroma y sabor (Licciardello *et al.* 2017). La rancidez se caracteriza por la degradación lipídica lo que provoca mal olor y sabor, volviendo a los productos desagradables y disminuyendo así su vida útil. Sin embargo, no es un problema frecuente en productos de panadería.

Un modelo matemático, usando la relación entre los peróxidos y la aceptabilidad sensorial con la dependencia de la temperatura de la formación de peróxido, se utilizó para calcular la vida útil de las galletas envasadas en una película de polipropileno metalizada orientada y almacenada a diferentes temperaturas (Calligaris *et al.* 2007).

2.4.4 Deterioro físico

La pérdida de humedad es la mayor causa de deterioro físico en los alimentos. El envejecimiento del pan se divide en dos categorías: envejecimiento de la corteza y miga. El ablandamiento de la corteza es consecuencia de la difusión de agua de la miga hacia la corteza, propiciada por un gradiente de concentración (la miga posee más agua que la corteza) y por la absorción de humedad de la atmósfera. Por su parte, el endurecimiento de la miga es más compleja, más importante y menos entendido (He y Hosenev 1990).

Muchos estudios han sugerido que el endurecimiento es debido a la migración de la humedad desde la miga a la corteza y, más específicamente, desde el almidón hinchado al gluten. Los productos con un alto contenido en humedad endurecen más rápidamente. Sin embargo, el endurecimiento no es debido simplemente a una pérdida o migración de la humedad (Kulp y Ponte 1981).

La retrogradación de las moléculas de almidón sigue siendo el factor más ampliamente aceptado que contribuye al envejecimiento del pan, este cambia la distribución de las moléculas de agua entre los componentes, reduciendo el agua asociada con el gluten. Los aditivos que tienen mayor efecto en la reducción del estancamiento en el pan son (sin un orden especial) tensoactivos, amilasa e hidrocoloides (gomas y almidón modificado) (Gray y Bemiller 2003).

Katz (1928) demostró que la retrogradación de los polímeros de almidón eran responsables de la pérdida de la vida útil del pan porque sus patrones de difracción de rayos X del pan fresco eran similares a los del almidón de trigo recién gelatinizado, mientras que los patrones del pan duro eran similares a los del almidón retrogradado. En la actualidad, la calorimetría de barrido diferencial (DSC) y el análisis térmico diferencial (DTA) han demostrado ser los análisis más útiles para proporcionar información básica sobre la retrogradación del almidón (Karim *et al.* 2000).

Xu *et al.* (2020) utilizaron espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) encontrando que a una temperatura de envasado más alta retrasaba la formación de una estructura ordenada en un producto de panadería típico chino durante el almacenamiento, disminuyendo la retrogradación del almidón y extendiendo su vida útil.

a. Contenido de humedad

En muchos alimentos, el agua es uno de los componentes más importantes. El agua no solo es un medio de reacciones químicas y bioquímicas, sino que también participa en algunas de ellas. Desde el punto de vista microbiológico, el agua es uno de los factores más críticos. De igual importancia el hecho de que el agua afecta a las propiedades sensoriales de los alimentos. Por ello, muchos alimentos tienen la capacidad de aumentar o disminuir su contenido de humedad (o vapor de agua), dependiendo del sentido en el que se realice la transferencia del vapor de agua (Man 2004).

También se ha demostrado que un mayor contenido de humedad en productos de panadería ralentiza la retrogradación del almidón dentro de un cierto rango (Sheng *et al.* 2016; Xu *et al.* 2020).

b. Humedad relativa (HR)

La humedad relativa del ambiente intermedio afecta directamente el contenido de humedad y actividad de agua del alimento. Cuando la presión de vapor de agua del alimento es igual con la del aire circundante, la presión está en equilibrio. Las moléculas de agua perdidas del producto son iguales a las moléculas ganadas del agua desde el ambiente por el producto. Cuando el producto está expuesto a un ambiente por encima o debajo de este punto de equilibrio, el envase protector y su nivel de barrera determinarán cuanto impactarán en el

alimento. Los productos almacenados en climas más secos pueden perder la humedad y ganar en climas más húmedos.

Por otra parte, esta transferencia de agua también ocurre internamente entre los constituyentes de un alimento, como sucede en las barras de los cereales con algunos componentes de humedad intermedia. El exterior es una galleta seca con 0,3 de a_w (bajo potencial químico), mientras que el relleno de frutas es de 0,7 de a_w (alto potencial químico). Este diferencial provoca la migración de agua y la hidratación de la galleta, lo que conlleva a una reducción de su crujencia y facilita la oxidación de sus grasas. Al reducirse el contenido de humedad del relleno, su azúcar cristaliza y libera más agua, lo que a su vez aumenta la a_w y acelera su migración (Badui 2006).

c. Actividad de agua (a_w)

Robertson (2013) señala la actividad de agua (a_w) como la relación entre la presión de vapor de agua de un material y la presión de vapor seguro de agua pura a la misma temperatura.

Matemáticamente:

$$a_w = \frac{f}{f_o} = \frac{p}{p_o} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

a_w : Actividad de agua

f y p: Fugacidad y presión de vapor del agua en el alimento, respectivamente

f_o y p_o : Fugacidad y presión del vapor del agua pura, respectivamente

Este concepto está relacionado con la humedad relativa de equilibrio (HRE) en donde $HRE = 100 \times a_w$. Sin embargo, mientras la a_w es una propiedad intrínseca de los alimentos, HRE es una propiedad de la atmósfera en equilibrio con el alimento. Reid (2007), la igualdad en la Ecuación 1 se basa en la suposición de equilibrio termodinámico, que generalmente se viola con los alimentos y, por lo tanto, la igualdad debe reemplazarse por una aproximación.

El control de la a_w es la base para la conservación de los alimentos húmedos, secos e intermedios. Además de los límites críticos específicos de la a_w , esta tiene un efecto pronunciado sobre las reacciones químicas en estos alimentos. Generalmente, aumenta la capacidad del agua de actuar como solvente, medio de reacción y los mismos reactivos al

aumentar la a_w hasta un punto donde otros factores pueden disminuir las velocidades de reacción. Como resultado, aumenta exponencialmente la velocidad de muchas reacciones de deterioro al aumentar la a_w por encima de los correspondientes valores en la humedad de la monocapa cuyo valor en muchas reacciones tiene un velocidad mínima (Reid 2007).

d. Isotermas de sorción

Una isoterma de sorción es una representación gráfica de la dependencia de la a_w del alimento respecto a su contenido de humedad a una determinada temperatura (Rahman 1995). La palabra “sorción” designa el fenómeno en general, sin precisar la dirección. Las isotermas son no lineales, generalmente son de forma sigmoidea y están clasificadas como isotermas del tipo III por Brunauer para la mayoría de los alimentos, la tipo II es la isoterma sigmoideal, que es muy común de los alimentos, especialmente de los cereales y almidones y presenta dos inflexiones alrededor de a_w entre 0,2 a 0,4 y 0,6 a 0,7 respectivamente, que ocurren como resultados de los cambios de magnitud de los diferentes fenómenos fisicoquímicos, pero frutas, confituras y extracto de café, que contienen grandes cantidades de azúcar y otras moléculas solubles pequeñas y que no son ricas en material polimérico, exhiben isoterma tipo I (por debajo de a_w entre 0,7 y 0,8) (Fenema 2000). En la Figura 4 se muestran los cinco tipos básicos de isotermas (Brunauer *et al.* 1938).

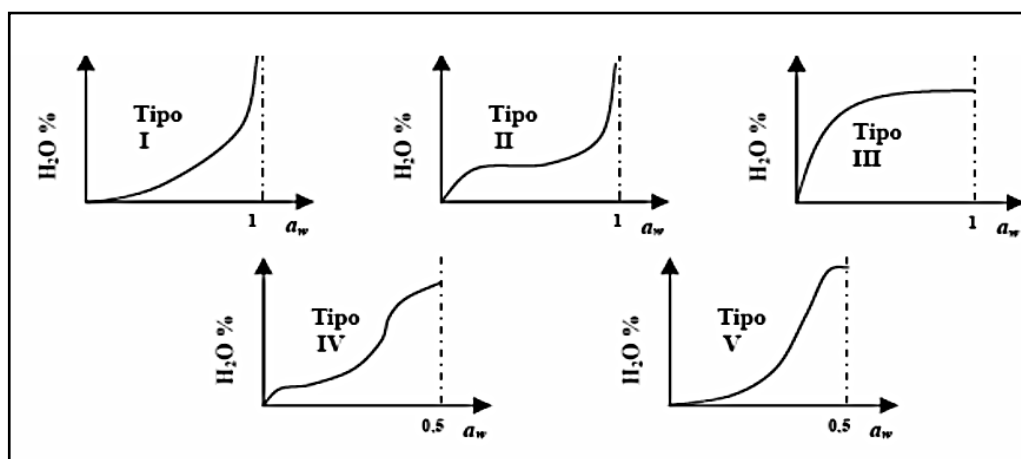


Figura 4: Esquema de los cinco tipos de isotermas.

FUENTE: Adaptado de Brunauer *et al.* (1938).

Las interacciones soluto - soluto, agua - soluto y la acción capilar no son fáciles de cuantificar en el caso de los alimentos, es por esto que se considera que las isotermas de sorción proporcionan una de las mejores predicciones de a_w dentro de un amplio rango de

contenido de humedad y temperatura para estos sistemas. Los productos sensibles a la humedad pueden absorber una elevada cantidad durante su almacenamiento ya que los materiales de empaque comúnmente utilizados son permeables al vapor de agua. El contenido de humedad puede usarse como dato crítico para juzgar la calidad de los productos que han sido degradados por la humedad (Robertson 2013).

Una isoterma tipo II típica, mostrada en la Figura 5, presenta tres zonas identificables (A, B y C), atribuibles a los diferentes tipos de agua que dominan los fenómenos fisico-químicos en cada una de ellas, la zona A está dominada por el agua de monocapa (agua ligada), la zona B se rige por el comportamiento del agua de multicapa (de hinchamiento y capilares pequeños) y la zona C por el agua libre.

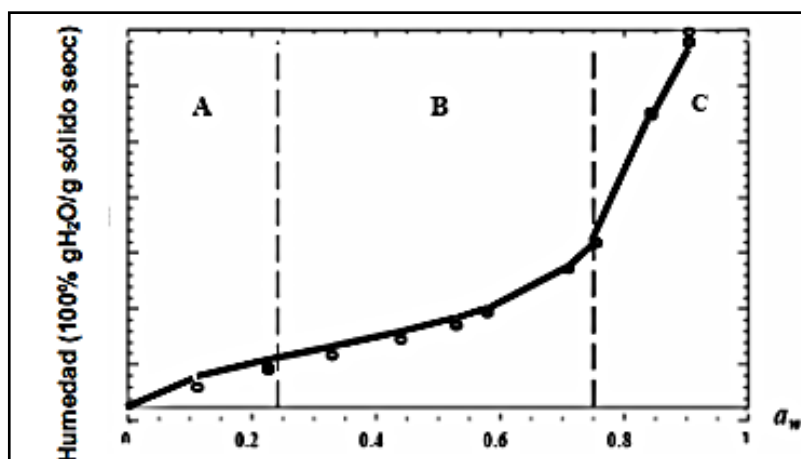


Figura 5: Isoterma tipo II con tres zonas identificables A, B, C.

FUENTE: Adaptado de Rahman (1995).

El método de Lang y Mccune (1981), se utiliza para determinar las isotermas de sorción de humedad de productos alimenticios. Se basa en el uso de soluciones salinas saturadas para mantener una humedad relativa fija y contenedores relativamente pequeños que permiten un rápido equilibrio de las muestras con la atmósfera de prueba. Las sales estándar utilizadas y las actividades acuáticas correspondientes de sus soluciones saturadas ($a_w = 0,11 - 0,90$)(Greenspan 1977). Y se preparan siguiendo las recomendaciones del proyecto COST 90 (Araneda *et al.* 1995). Samaniego-Esguerra *et al.* (1991) consideran el equilibrio cuando el contenido de humedad (bs) no cambia en más de 1 mg/g de muestra (0,1 por ciento) durante tres períodos de muestreo consecutivos.

Chirife *et al.* (1983) revisaron 23 modelos de isotermas y evidenciaron que ninguno de estos modelos describió con precisión la isoterma de sorción en todo el rango de humedad relativa, ya que el agua está relacionada con la matriz alimentaria por diferentes mecanismos en diferentes regiones de actividad. Sin embargo, estos modelos siguen siendo importantes para su uso en la predicción de las propiedades de sorción de humedad de los alimentos.

e. Importancia de las isotermas de sorción

Las isotermas de sorción de humedad de alimentos permiten determinar:

- a. El calor de sorción o desorción, empleado en el diseño de sistemas de almacenamiento, secado y extrusión de cereales.
- b. La interacción del agua y sus componentes, información necesaria, para el diseño de operaciones de secado, mezclado, empaçado y almacenado.
- c. Las propiedades estructurales (área superficial específica, volumen de poros, distribución del tamaño de poros y cristalinidad) son de utilidad para la selección de las condiciones apropiadas de almacenamiento y empaçado, que maximice la retención de aroma, color, textura, nutrientes y la estabilidad microbiológica.
- d. Las condiciones críticas de humedad y consecuentemente el nivel de protección al vapor de agua requerido para preservar sus características originales.
- e. Las propiedades de sorción de vapor de agua de biopolímeros y con ello, su posibilidad de uso en la elaboración de empaques comestibles.

El conocimiento de las isotermas de sorción también es importante para predecir las propiedades de sorción de humedad de productos alimenticios altamente sensibles a través de modelos empíricos. Estas isotermas proporcionan información sobre la capacidad de unión de la humedad de los productos a una humedad relativa determinada y son un medio útil para analizar el efecto plastificante de la humedad y el efecto sobre las propiedades de textura (Bell y Labuza 2000; Al-Muhtaseb *et al.* 2002).

2.5 EMPAQUES EN LA INDUSTRIA DE PANIFICACIÓN

La función principal de un paquete es minimizar las reacciones que afectan la estabilidad del alimento contenido. Durante el almacenamiento, los alimentos envasados están expuestos a gases presentes en el medio ambiente (vapor de agua, oxígeno), así como a condiciones (temperatura, humedad) que puede afectar la vida útil de los alimentos. Por lo tanto, la

velocidad de difusión de gases a través de la película del paquete puede convertirse en factor limitante para lograr una vida útil adecuada (Galić *et al.* 2019). En la Tabla 8 se muestra los principales envases utilizados en los productos de panadería. Man y Jones (2000) mencionan que los envases para productos de panadería deben cumplir las siguientes características:

- Tasa de transmisión de vapor de agua, para un material dado, mientras más bajo sea este valor más alto será la barrera contra la humedad.
- Tasa de transmisión de oxígeno, la cual se reduce al aumentar el espesor del material.
- Densidad óptica, que es la medida de la cantidad de luz que atraviesa el material de empaque incidiendo sobre el alimento.
- Propiedad de barrera ante sabores y olores, tanto para retener los sabores y olores propios de los alimentos como para impedir el ingreso de fuentes extrañas.

Tabla 8: Efecto del procesamiento y envasado sobre la vida útil del pan

Tipo de pan	Proceso adicional	Material de envase	T °C	Vida útil (días)	Referencia
Pan envasado (sin cortar)	Propionato de calcio (CaP) 0,1 – 0,4% (peso/peso)	Poliétileno de baja densidad	30	4 - 9	Gerez <i>et al.</i> (2010)
	<i>L. plantarum</i> CRL 778 + CaP			0 - 24	
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>			2	
	Sin conservante y envase con oxígeno reducido	Poliétileno de baja densidad trilaminado (5% O ₂ ; 95% N ₂)	30	5 - 7	Upasen y Wattanachai (2018)
Pan bajo en sal	Pan control	Bolsas de polietileno de baja densidad (con aire estéril)	20	2 - 6	Belz <i>et al.</i> (2012)
	Pan con masa fermentada (23,8 %)			2 - 14	
	CaP (0,3%)			0 - 12	
Pan	<i>Bacillus subtilis</i> SPB1 más Surfactante (Lecitina de soya)	Polipropileno coextruido	25	8	Mnif <i>et al.</i> (2012)
Pan parcialmente horneado (superficie rociada con 0,1 g de etanol)	Sin masa madre	Poliamida (Nylon/ Polietileno de baja densidad (90 µm))	21	22	Novotni <i>et al.</i> (2017)
	Enfriamiento al vacío más masa madre	MAP (70% CO ₂ ; 30% N ₂)		30	

CaP: Propionato de Calcio.

FUENTE: Adaptado de Galić *et al.* (2019).

2.5.1 Permeabilidad

Las propiedades de barrera de los plásticos indican su resistencia a la penetración de gases saborizantes y compuestos aromáticos. La historia de la teoría de la permeación está bien presentada en la literatura (Stannett 1978; Robertson 2013; McKeen 2017). La interacción entre los alimentos, el envase y el medio ambiente puede describirse como permeación, migración y desescamado.

Permeación implica el transporte masivo de componentes a través del paquete y puede ocurrir en ambas direcciones dependiendo de la diferencia de concentración. El transporte masivo de los componentes del paquete (por ejemplo, plastificantes) a los alimentos se conoce como migración y el transporte masivo de los componentes de alimentos y bebidas (por ejemplo, compuestos aromatizantes) al paquete se conoce como scalping.

Basado en el mecanismo de "solución - difusión", el proceso de transporte de gases o vapores a través de polímeros no porosos puede ser descrito como una secuencia de procesos consecutivos: sorción de los componentes en un lado, difusión activada a través del polímero y desorción de los componentes en el otro lado. Una extensa colección de soluciones matemáticas del transporte molecular en plásticos ha sido presentada por Crank (1975). El transporte del permeado se caracteriza por: coeficientes de permeabilidad (P), difusión (D) y sorción (S) (Robertson (2013; Koros *et al.* 2015). Un buen material de barrera presenta bajos valores de permeabilidad (Valentas *et al.* 1997).

2.6 DETERMINACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE ALIMENTOS “PAN”

Robertson (2013), existen varios enfoques establecidos para estimar la vida útil de los alimentos:

1. **Estudio de literatura:** La vida útil de un producto análogo se obtiene de la literatura publicada o de los archivos internos de la compañía. Se pueden encontrar ejemplos en libros recientes sobre la vida útil de los alimentos. El problema es que estos datos son muy limitados y generalmente se aplican a los alimentos de tipo básico.

2. **Tiempo de rotación:** El período de tiempo promedio que un producto pasa en el estante minorista se determina al monitorear las ventas de los minoristas y a partir de esto se estima

la vida útil requerida. Esto no proporciona la vida útil "real" del producto, sino la vida útil "requerida", donde se supone implícitamente que el producto aún es aceptable durante algún tiempo después del período promedio en el estante minorista.

3. Estudio de punto final: Se obtienen muestras aleatorias del producto en puntos de venta minorista y luego se analizan en el laboratorio para determinar su calidad. A partir de esto, se puede obtener una estimación razonable de la vida útil porque el producto ha estado expuesto a tensiones ambientales reales encontradas durante el almacenamiento y la venta al por menor.

4. Pruebas aceleradas: Se llevan a cabo estudios de laboratorio durante los cuales las condiciones ambientales se aceleran por un factor conocido para que el producto se deteriore a un ritmo más rápido de lo normal. Este método requiere que se pueda cuantificar el efecto de las condiciones ambientales sobre la vida útil del producto.

5. Estudios en tiempo real: Este tipo de estudio consiste en mantener al alimento en las condiciones previstas para su almacenamiento y puntos de comercialización principalmente "la temperatura". Es aplicable para productos perecederos cuya vida útil son pocos días. Los datos que brindan son buenos (Udomkun *et al.* 2016).

2.6.1 Vida útil en alimentos empacados

Jena y Das (2012) aseguran que la capacidad de predecir la vida útil de un producto es una propuesta compleja. Dependiendo de la naturaleza del producto, diversas propiedades o índices de calidad deben ser seguidos experimentalmente como una función del tiempo con el fin de evaluar la degradación de la calidad del producto.

Van Boekel (2008), la vida útil se puede determinar desde dos lados: el lado del producto y el lado del consumidor. Determinar la vida útil desde el lado del producto implica que el deterioro del producto se investiga en función del tiempo y puede implicar la medición de la cantidad de microorganismos o la disminución de los componentes deseados, como nutrientes y textura, también el aumento de componentes no deseados como pigmentos marrones, sabores desagradables o humedad.

Pagani *et al.* (2006) estudiaron si el tipo de películas podrían influir en la tendencia de fenómenos relacionados con el envejecimiento de productos de panadería, demostrando que la película permitió mantener la corteza crujiente como la miga suave durante 48 horas de almacenamiento.

Chiavaro *et al.* (2008) trabajaron con las propiedades fisico-químicas de tres panes comerciales de Altamura durante el almacenamiento a 25 °C. Todas las migas para los productos, sufrieron una reducción significativa del contenido de humedad y a_w durante el almacenamiento y fueron más duros.

Sharma *et al.* (2003) encontraron que a la vida de útil de los alimentos empacados está regulada por propiedades de los alimentos como la actividad de agua, pH, susceptibilidad al deterioro enzimático y microbiológico, así como las propiedades de barrera del envase al oxígeno, la luz, la humedad y el dióxido de carbono. La pérdida o la ganancia de humedad es uno de los factores más importantes que controlan la vida útil de los alimentos. El microclima dentro del envase es regulado por la presión de vapor de la humedad del alimento a la temperatura de almacenamiento.

Guillard *et al.* (2003) desarrollaron un modelo matemático para un bizcocho en contacto con un relleno fresco y húmedo. Encontraron una ley de potencia como representativa del efecto del contenido de humedad en difusividad efectiva en agua de bizcocho. El modelo fue validado con 0,95 y 0,90 en geles de agar con actividad de agua y utilizado con éxito para predecir la transferencia de humedad en un alimento real.

Lamiani *et al.* (2010) emplearon fetta biscottata (producto típico de panadería Italiano) como sistema modelo para hacer un pronóstico de vida en anaquel mediante la influencia de la humedad relativa en el equilibrio del espacio de cabeza del empaque. Se pudo concluir que la humedad relativa del espacio de cabeza del empaque no se equilibra inmediatamente con el producto.

2.6.2 Modelamiento matemático para la cinética de deterioro

La velocidad de las reacciones de deterioro es factor importante para evaluar los cambios en la calidad de los alimentos y la vida útil. La cinética química implica el estudio de la velocidad y mecanismos por los cuales una especie química se convierte en otra. Se caracteriza por la constante de velocidad (k) y el orden de la reacción (n). La velocidad de

una reacción química o el deterioro de un indicador de calidad, se define como el cambio de concentración de un reactivo (A) en un tiempo dado (t) (Kong y Singh 2016):

$$\frac{\pm dA}{dt} = kA^n \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

A: Componente o característica del alimento

n: Orden de la reacción para el componente A

k: Constante aparente de reacción

±: Aumento de una característica indeseable (+) y pérdida de una característica deseable (-)

Con base en la Ecuación 2 el cambio en el tiempo de una característica de calidad puede expresarse como:

$$\frac{\pm dQ}{dt} = kQ^n \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde:

Q: Característica de calidad

n: Orden de la reacción para la característica Q

k: constante aparente de reacción

La mayoría de las reacciones que han sido estudiadas en cuanto al deterioro de alimentos se caracterizan por tener una cinética de orden cero o primer orden, al aplicar el método integral a la Ecuación 2, se obtienen las ecuaciones correspondientes a estas cinéticas de reacción (Labuza 2000).

Cuando n es igual a cero se llama reacción de orden cero, lo que implica que la tasa de pérdida de calidad es constante en condiciones ambientales constantes y se expresa:

$$Q = Q_0 \pm kt \quad \text{Ecuación 4}$$

Si n es igual a uno se denomina cinética de reacción de primer orden. Esta función se puede expresar de la siguiente manera:

$$\ln \frac{Q}{Q_0} = \pm kt$$

Ecuación 5

Donde:

Q₀: Valor inicial del atributo de calidad

Q: Valor del atributo en el tiempo t

k: Constante aparente de reacción

t: Tiempo.

Los alimentos son sistemas muy complejos desde el punto de vista de su composición química, biológica y física. Mientras que la mayor parte de las investigaciones realizadas sobre reacciones químicas han sido hechas en modelos simples de uno, dos o pocos reactantes, la situación en los alimentos es muchos más compleja y difícil de elucidar, ya que muchas reacciones son interactivas e interdependientes (Labuza 1984). Le-Bail *et al.* (2009) investigaron el impacto de las condiciones de cocción en el pan desmenuzado. Las pruebas de calorimetría mostraron que durante el almacenamiento la recristalización de amilopectina se produjo antes del endurecimiento de la miga. Se utilizó un modelo cinético de primer orden para adaptarse a la evolución de la textura de la miga y la recristalización de amilopectina.

2.6.3 Modelamiento matemático por ganancia o pérdida de humedad

El cambio de humedad es un problema común en muchos sistemas alimentarios compuestos donde hay un diferencial de contenido de humedad (Guillard *et al.* 2003). El agua se difunde de la humedad en el componente seco que conduce a la irreversible pérdida de textura (Labuza y Hyman 1998). Este es un problema en la industria de la panadería al hacer galletas u obleas con mermelada, malva, tartas de pastelería que contengan crema y bizcochos con un relleno de crema. Las propiedades de transporte y equilibrio del agua para cada compartimento son factores importantes necesario para modelar y predecir la transferencia de humedad entre los componentes y como consecuencia la vida útil del producto (Guillard *et al.* 2003).

a. Aplicación de la permeación en la predicción de vida útil

Robertson (2013), la predicción de la transferencia de humedad hacia o desde un alimento se realiza usando la Ecuación 6, dadas ciertas condiciones de límite. El análisis requiere los

supuestos de que P/x sea constante, que el ambiente externo está a temperatura y humedad constantes y que p_2 la presión de vapor del agua en los alimentos siga una función simple del contenido de humedad.

$$\frac{\delta w}{\delta t} = \frac{P}{x} A (p_1 - p_2) \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde:

P: Permeabilidad (la constante de permeabilidad P)

x: Grosor de la película

A: Área de superficie del paquete

p_1 y p_2 : Presiones parciales de vapor de agua fuera y dentro del paquete

$\delta w/\delta t$: Velocidad de transporte de gas o vapor a través de la película, donde el último término corresponde a Q/t en la forma integrada de la expresión

El punto crítico de la Ecuación 6 es que la presión de vapor interna no es constante, sino que varía con el contenido de humedad de los alimentos en cualquier momento. Por lo tanto, la tasa de ganancia o pérdida de humedad no es constante, sino que disminuye a medida que Δp se hace más pequeño. Por lo tanto, alguna función de p_2 , (la presión de vapor interna) en función del contenido de humedad debe insertarse en la ecuación para poder hacer predicciones adecuadas. Labuza (1982) y Risbo (2003), la vida útil del producto se alcanza cuando $m = m_c$, el contenido crítico de humedad en cuyo momento t es el tiempo de vida útil. Por lo tanto, la ecuación de estimación de la vida útil de alimentos empacados sensibles a la humedad es:

$$\ln \frac{m_e - m_i}{m_e - m} = \left[\frac{P}{x} \frac{A}{W_s} \frac{p_o}{b} \right] t \quad \text{Ecuación 7}$$

Donde:

m_e : Humedad de equilibrio (bs)

m_i : Humedad inicial del alimento (bs)

m : Humedad del alimento en el momento t (bs)

p_o : Presión de saturación vapor del agua pura a la temperatura de almacenamiento (no la presión de vapor real fuera del paquete)

Risbo (2003) sostiene que se ha estudiado el uso de elementos finitos y técnicas de diferencias finitas. Estas técnicas sólo proporcionan conocimiento general limitado de la influencia de diversos parámetros sobre la dinámica de la transferencia de humedad.

Jena y Das (2012) utilizaron la ecuación para la predicción de vida útil de polvo de leche de coco, para la cual implementaron la ecuación con la isoterma del modelo GAB, realizando la integración por métodos numéricos y obteniendo una predicción satisfactoria de tiempo de vida útil considerando como humedad crítica (0,112 kg agua/kg de materia seca) siendo la vida útil predicha de 30,28 días y la experimental 30 días. (Kulchan *et al.* 2010), mediante el modelo se realizó la predicción de vida útil de productos de panadería basadas en harina de yuca, el modelo de isoterma de sorción utilizado fue el modelo GAB, además utilizaron la energía de activación para relacionar la cinética de ganancia de humedad con la temperatura.

2.6.4 Evaluación sensorial para determinación de la vida útil

a. Análisis sensorial

La evaluación sensorial es una disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de los alimentos y materiales a medida que son percibidos por los sentidos de la vista, el olfato, el gusto, el tacto y el oído (Stone *et al.* 2004). El hecho que el ser humano sea el instrumento de medición se corre el riesgo de su variabilidad, lo cual se minimiza con el entrenamiento para tal fin y en parte afianzarle mediante la psicología (Meilgaard *et al.* 2006).

b. Principios de la evaluación sensorial

La norma 8589 (ISO 2007) provee una guía para la instalación de los locales de ensayo para análisis sensorial. El lugar físico donde se realizan las pruebas debe diseñarse para minimizar los prejuicios del sujeto, maximizar su sensibilidad y eliminar las variables que no provengan del producto que se va a evaluar. De ser posible, el ambiente será tranquilo, agradable, de temperatura acondicionada y en algunos casos con control de humedad. No se permite fumar ni el uso de cosméticos o perfumes dentro de esta área.

Para la mayoría de las pruebas, los evaluadores deben emitir juicios independientes, por lo tanto, para prevenir una posible comunicación entre ellos se utilizan cabinas individuales. En éstas, la luz debe ser uniforme y no debe influir la apariencia del producto que se va a evaluar. Algunas veces se utilizan luces coloreadas para disimular diferencias de color entre las muestras.

La hora del día en que se desarrollan las pruebas puede influir en los resultados; los mejores momentos serían al finalizar la mañana y la media tarde. La preparación de las muestras debe desarrollarse en un área anexa a la sala de degustación. Esta área debe contar con un buen sistema de extracción de aire para eliminar todos los olores.

Los evaluadores pueden verse afectados por algunas características de las muestras que son irrelevantes. Es por ello que debe lograrse que las muestras provenientes de distintos tratamientos sean idénticas en todas sus características, salvo en la que se está evaluando. Durante la sesión de trabajo los evaluadores reciben algún agente para el enjuague de la boca entre las muestras. En general se utiliza agua a temperatura ambiente.

c. Tipos de pruebas sensoriales

Kemp *et al.* (2009), la evaluación sensorial es clasificada en dos categorías de pruebas: objetivas y subjetivas. La elección de unas u otras depende del objetivo que se pretenda alcanzar en un determinado estudio. Las pruebas objetivas (discriminativas y descriptivas) proporcionan datos objetivos sobre las propiedades sensoriales de productos y son realizados por asesores capacitados. Las pruebas afectivas (preferencia, grado de satisfacción y aceptación) permiten evaluar la preferencia o aceptación del producto, para realizar esta prueba se utiliza un mínimo de 50 jueces no entrenados, los que constituyen los denominados jueces afectivos y se escogen atendiendo que sean consumidores habituales o potenciales del producto a evaluar (Ureña *et al.* 1999; Kemp *et al.* 2009; Espinosa Manfugás 2007).

d. Escalas de las pruebas sensoriales

La escala es el instrumento que se utiliza para medir las respuestas sensoriales y es una parte fundamental dentro del análisis sensorial. De la correcta elección de la escala de medida puede depender el éxito de una evaluación sensorial (Meilgaard *et al.* 2006).

Las escalas nominales son aquellas en las que las variables objeto de estudio son cualitativas, aunque vayan asociadas a números. Escalas ordinales permiten evaluar la posición relativa de un producto en función de una o varias de sus propiedades, es decir se ordenan en función de determinada característica. Escalas de intervalos cuentan con intervalos de magnitud constante, para los distintos niveles de puntuación y permiten ordenar muestras, de acuerdo a la magnitud de una sola característica del producto, a la aceptabilidad o preferencia. Estas escalas pueden clasificarse de acuerdo a su representación (verbal y gráfica), al número de sensaciones (polar o bipolar) y a su estructura (estructurada y no estructurada). En la escala no estructurada lineal, sólo se definen o identifican los extremos del segmento y en ocasiones el centro, se da la plena libertad al juez para indicar dónde radica su juicio, pudiendo su extensión variar, pero por lo general se adopta una longitud de 10 cm (Césari 2016; Espinosa Manfugás 2007).

e. Pruebas de aceptabilidad

Se basan en que el consumidor emita su impresión una vez que ha probado las muestras, señalando cuánto le agradan o desagradan (grado de aceptabilidad sensorial). El consumidor debe evaluar la muestra sobre una escala que puede ser de tipo estructurada, semiestructurada o no estructurada. La marca que realiza el consumidor sobre la escala se transforma en un valor numérico (puntuación) que luego se analiza estadísticamente por análisis de varianza. Una de las cuestiones más delicadas en los estudios con consumidores es el diseño del formulario de evaluación. Los cuestionarios deben ser claros y homogéneos en estilo (Hough y Fiszman 2005).

f. Análisis de supervivencia

Los métodos probabilísticos de estimación de la vida útil se utilizan principalmente cuando el estudio se hace a través de evaluaciones sensoriales, la esencia de estos métodos consiste en considerar la vida útil como una variable aleatoria y describir su comportamiento mediante un modelo estadístico. Los consumidores que aceptan o rechazan los alimentos que han sido almacenados durante varios períodos de tiempo sin especificar normalmente la razón. En la rama de las estadísticas conocidas como análisis de supervivencia, la insatisfacción del consumidor puede estar relacionada con la función de supervivencia, definida como "la probabilidad de que un consumidor acepte un producto más allá de un cierto tiempo de almacenamiento"(Robertson 2013).

La aceptabilidad del consumidor generalmente se determina por medio de test de consumidores utilizando una gran cantidad de catadores sin capacitación. Hough *et al.* (2003) introdujeron esta metodología en el estudio de la vida útil de los alimentos. Su concepto clave es enfocar el riesgo de vida útil en el rechazo del producto por parte de los consumidores, se ha utilizado el análisis supervivencia para determinar la vida útil de leche (Duyvesteyn *et al.* 2001), café tostado y molido (Cardelli y Labuza 2000), pan (Gámbaro *et al.* 2006), alfajor (Gámbaro *et al.* 2004), yogur (Curia *et al.* 2006), estudio acelerado en carnes picadas (Hough *et al.* 2006), manzana (Gámbaro *et al.* 2006) y lechuga (Araneda *et al.* 1995).

Una vez que los parámetros de un modelo de vida útil han sido estimados, se puede usar para predecir las probabilidades de fallas futuras. Cinco modelos estadísticos: normal, log normal, exponencial, Weibull y las distribuciones de valor extremo fueron probadas por unos pocos productos alimenticios (Gacula y Kubala, 1975; Labuza y Schmidl, 1988; Gambaro *et al.* 2004b) encontraron que la distribución Weibull se ajustaba mejor.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

La presente investigación se realizó en las siguientes instalaciones: El pan de molde sin gluten con quinua fue elaborado en Laboratorio de Panificación de la Facultad de Zootecnia, el almacenamiento del pan se realizó en el Laboratorio de Envases de la Facultad de Industrias Alimentarias, el análisis sensorial del pan se efectuó el Laboratorio de Análisis Sensorial diseñado con la norma 8589 (ISO 2007) y los análisis fisico-químicos del pan se desarrollaron en los Laboratorio de Análisis Fisicoquímico de Alimentos y Laboratorio de Investigación de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

3.2 MUESTRAS

El pan de molde sin gluten con quinua se elaboró utilizando los siguientes insumos:

- Quinua de la variedad Pasankalla, fue adquirido en el laboratorio de Cereales de la UNALM.
- Almidón de papa, adquirido en la empresa, Pepees S.A (Lomnza - Polonia).
- Levadura fresca Fleischmann, adquirida en Calsa Perú S.A.C (Lima - Perú).
- Goma xantano y propionato de calcio, adquiridos en Dresden food (Lima-Perú).
- Bolsas de polietileno y polipropileno, adquiridas en la empresa Vergara S.A (Lima - Perú). Permeabilidad al vapor de agua: polipropileno 1,2433 y 1,4505 g.µm/m².día.mmHg para el polietileno y espesor de 50,8 µm para cada envase.
- Agua (San Mateo), adquirido en la empresa Backus (Lima - Perú).

3.3 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

3.3.1 Materiales

Además de lo necesario para el análisis químico proximal se usó los siguientes materiales:

- Campanas de desecación.
- Vasos precipitados de 50, 100 y 250 ml.
- Placas Petri.

3.3.2 Reactivos

- Cloruro de magnesio, Merck, USA.
- Carbonato de potasio, Merck, USA.
- Nitrato de magnesio, Merck, USA.
- Cloruro de Sodio, Merck, USA.
- Cloruro de Potasio, Merck, USA.
- Nitrato de Potasio, Merck, USA.

3.3.3 Equipos

- Amasadora sobadora, marca NOVA, modelo K25, PERÚ.
- Cámara climática, modelo CLIMACELL EVO, ALEMANIA.
- Balanza analítica, marca OHAUS Co, modelo Explorer, USA.
- Cámara de fermentación artesanal.
- Determinador de actividad de agua AQUALAB, modelo 4TEV DUO, USA.
- Estufa de secado, marca MMM, modelo VENTICELL, ALEMANIA.
- Horno a convección rotatorio, marca NOVA, modelo MAX 1082, PERÚ.
- Medidor de volumen Perten instrumets, modelo BVM 6610, SUECIA.
- Molino de martillos, marca INNOVA, modelo NBR7094, PERÚ.
- Teléfono, marca iPhone 5s, modelo A1533, USA.
- Termoselladora, modelo PSF, PERÚ.
- Termómetro digital electrónico, modelo HI98501, CHILE.
- Texturómetro INSTRON, modelo 3365B11318, USA.

3.3.4 Softwares ocupados

- Minitab 18.1 2017.
- LAB Fit V 7.2.50.
- STATGRAPHICS.
- Image J 1.45s.

3.4 MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.4.1 Análisis químico proximal

El análisis proximal del pan de molde sin gluten con quinua se efectuó según métodos oficiales de la AOAC y NTP: Humedad 206.011 (NTP 2018), cenizas totales 930.22 (AOAC 2016), fibra cruda 205.003 (NTP 2011), grasa bruta 935.39 (AOAC 2016), proteína bruta

950.36 (AOAC 2016) y carbohidratos totales se determinó por diferencia de 100 por ciento menos los resultados de los análisis de humedad, proteína bruta, grasa bruta y cenizas totales.

3.4.2 Análisis durante el almacenamiento del producto terminado

Se realizaron los siguientes análisis que se describen a continuación:

a. Humedad de la miga

El contenido de humedad de las muestras de pan en bolsas de polietileno y polipropileno se realizó utilizando una estufa a 105 ± 1 °C, en donde fueron secadas hasta peso constante, utilizando el método estándar 206.011 (NTP 2018), se siguió la metodología propuesta por Demirkesen *et al.* (2014), la medición se llevó a cabo por triplicado para cada material de empaque (polipropileno y polietileno) por día de análisis.

b. Actividad de agua de la miga (a_w)

La a_w de las muestras de pan en bolsas de polietileno y polipropileno se determinó utilizando un determinador de actividad de agua AQUALAB a $25 \pm 0,1$ °C, se realizó siguiendo la metodología de Altamirano-Fortoul y Rosell (2011), finalmente la medición se llevó a cabo por triplicado.

c. Análisis reológico (Textura) de la miga

Para el análisis de la textura (firmeza) del pan se utilizó un Texturómetro INSTRON (Modelo 3365B11318, USA), se eligió la parte central de las rodajas ($25 \pm 0,2$ mm de diámetro y $25,03 \pm 0,01$ mm de espesor) mediante una prueba de doble compresión hasta penetrar el 50 por ciento con un émbolo (diámetro 42 mm), a una velocidad de 1 mm/s y una precarga de 10 g, finalmente, el émbolo volvió a su posición original a la misma velocidad. Se siguió el método estándar 74 - 09 (AACCC 2019) utilizando la metodología propuesta por Paciulli *et al.* (2016), las mediciones de la firmeza (kPa) se realizaron en todo el pan (cinco rodajas de $25 \pm 0,2$ mm). Se registraron los valores medios y sus desviaciones estándar.

d. Evaluación sensorial

Para la evaluación se utilizaron rodajas de pan de molde sin gluten con quinua (aproximadamente 25 g), se sirvieron en platos de plástico rotulados con un código de tres dígitos tomados al azar de una tabla de números aleatorios de acuerdo a Anzaldúa-Morales (1994). La evaluación sensorial se llevó a cabo durante cinco días y se efectuó con la participación de 1300 personas (consumidores frecuentes de pan) de la UNALM, los consumidores tenían edades comprendidas entre 17 y 64 años, distribuidos en número de 130 consumidores para cada empaque; de los cuales, para el envase de polipropileno, el 52 por ciento fueron mujeres y el complemento varones; para el polietileno el 54 por ciento fueron mujeres y la diferencia varones. El instrumento que se utilizó fue la ficha que se muestra en la Figura 6, la cual contiene una escala no estructurada con valores comprendidos entre cero y diez (mide 10 cm), en cuyo extremo izquierdo detalla "me desagrada mucho" y en el extremo derecho "me agrada mucho". A cada consumidor se le pidió que marcará con una "X" sobre la línea, en el lugar que considere que representa su grado de aceptación del producto; además, se les solicitó que contesten a la pregunta ¿Consumirías este producto? (dos opciones, si y no). Las marcas que realizaron los consumidores sobre la escala no estructurada se transformaron en valores numéricos (puntuaciones), que posteriormente se analizaron estadísticamente.

Por favor, marca lo que corresponda: Hombre () Mujer () Edad:		
<u>TEST DE ACEPTABILIDAD GENERAL</u>		
Instrucciones.		
• Enjuágate la boca con agua y luego degusta el pan. Marca con una "x" sobre la línea según tu opinión. Ejemplo —x—		
┌──────────────────┴──────────────────┐		
Me desagrada mucho	Ni me agrada ni me desagrada	Me agrada mucho
¿Consumirías este producto? SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>		
MUCHAS GRACIAS.		

Figura 6: Ficha de evaluación sensorial.

Para utilizar los resultados en pruebas estadísticas paramétricas, se emplean escalas de intervalo que permiten conocer la magnitud de la aceptabilidad del producto, como la de

línea no estructurada de 10 cm de longitud (Lawless y Heymann 2010). Las respuestas sí o no se utilizaron para determinar la vida útil mediante el análisis de supervivencia (Hough *et al.* 2003).

e. Evaluación microbiológica

Se realizó el análisis microbiológico (mohos), se utilizó el método de la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF 2000). El producto debía cumplir con los requisitos exigidos 206.004 (NTP 2016) para pan de molde.

f. Volumen específico

El volumen específico del pan de molde sin gluten con quinua se determinó utilizando un medidor de volumen Perten instrumets, modelo BVM 6610, SUECIA, siguiendo la metodología propuesta por Han *et al.* (2018) dividiendo el volumen (ml) sobre el peso (gramos). La medición se realizó a cabo por triplicado.

g. Estructura alveolar

Se utilizó la metodología propuesta por Pacheco Alfaro (2016), las imágenes se analizaron utilizando el *software* Image J 1.45s (National Institutes of Health, USA). La binarización de las imágenes se llevó a cabo de acuerdo con la técnica propuesta por Wang *et al.* (2017), se determinó el área celular media (mm²) y el número de alveolos/cm². Finalmente, la medición se llevó a cabo por triplicado (100 mediciones por cada repetición).

3.5 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Para la realización de la presente investigación se siguieron los siguientes pasos:

- Obtención del pan de molde sin gluten con quinua.
- Caracterización del producto obtenido.
- Determinación de la vida útil mediante la cinética de reacción.
- Modelamiento y predicción de la vida útil por ganancia de humedad.
- Determinación de vida útil por análisis de supervivencia.

3.5.1 Obtención del pan de molde sin gluten con quinua

Para la obtención del pan de molde sin gluten con quinua se siguió la metodología de Turkut *et al.* (2016), en la Tabla 9 se muestra la formulación que se utilizó en la presente investigación:

Tabla 9: Formulación del pan de molde sin gluten con quinua

Ingredientes	Esponja	Fermentado final	Total
Harina de quinua (%)	12,18	12,18	24,37
Almidón de papa(%)	14,13	14,13	28,26
Agua(%)	19,79	19,79	39,58
Goma xantano(%)	0,26		0,26
Sal(%)		1,05	1,05
Azúcar(%)	1,58	0,00	1,58
Aceite de girasol(%)		3,16	3,16
Levadura(%)	1,58		1,58
Propionato de calcio (%)		0,16	0,16

La preparación consistió en lo siguiente:

- La masa se preparó mezclando la mitad de harina de quinua, almidón de papa y agua, así como el total de goma xantano, levadura y azúcar en una amasadora sobadora durante cinco minutos, seguidamente se realizó un pre fermentado en una cámara artesanal a 28 °C y 80 por ciento de HR durante 30 minutos.
- La masa pre-fermentada se mezcló con el resto de los ingredientes, en una amasadora sobadora, durante cinco minutos.
- La mezcla de la masa total se fermentó en una cámara artesanal a 28 °C y 80 por ciento de HR durante 60 minutos, divididos en piezas de 450 g aproximadamente.
- Los panes se obtuvieron después de hornear a 180 °C durante 30 minutos, en el horno a convección rotatorio.
- Los panes de molde se enfriaron durante siete horas hasta que la temperatura del producto fue menor a 25 °C, se envasaron en bolsas de polietileno y polipropileno y se almacenaron a 25 °C y 80 por ciento de humedad relativa en una cámara climática.

3.5.2 Caracterización del producto final

Se ejecutó en el Laboratorio de Investigación de la UNALM. La caracterización del producto final se realizó en el día cero y se determinó:

- El volumen específico fue determinado en el pan de molde sin gluten con quinua utilizando la metodología de Han *et al.* (2018), para la cual se utilizó el pan de molde entero.
- La estructura de la miga del pan de molde sin gluten con quinua se realizó en rodajas centrales de 15 mm de espesor y un diámetro de $25 \pm 0,15$; se utilizaron imágenes tomadas con un teléfono iPhone 5s y siguiendo la metodología propuesta por Wang *et al.* (2017).

3.5.3 Determinación de la vida útil utilizando la cinética de reacción

Para la determinación de la vida útil del pan de molde sin gluten con quinua se realizó utilizando el procedimiento de Saguy y Karel (1980) y Labuza y Schmidl (1985), se siguió la secuencia mostrada en la Figura 7.

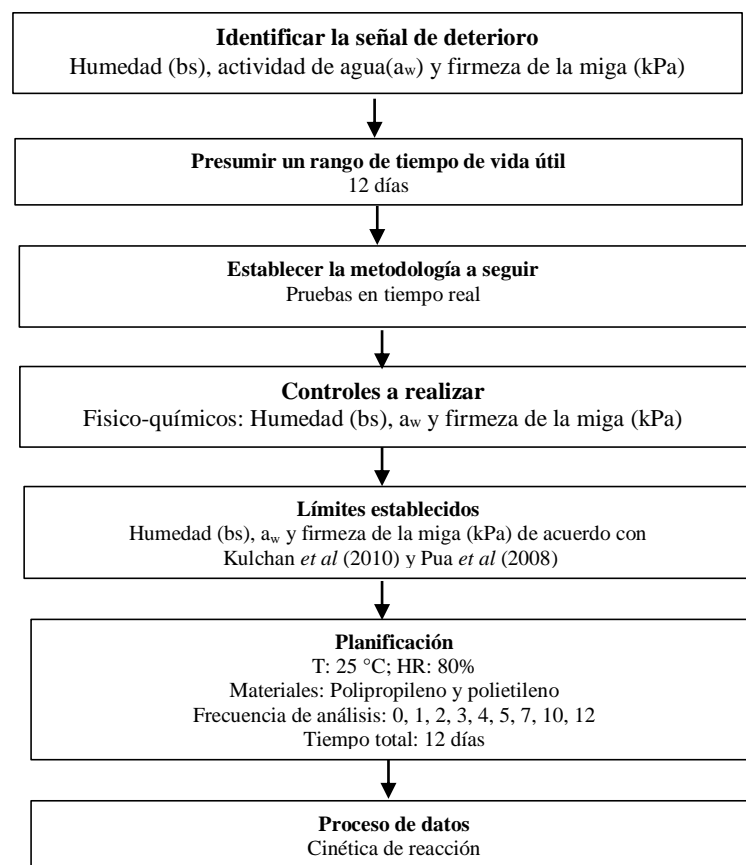


Figura 7: Metodología experimental para determinar la vida útil del pan de molde sin gluten con quinua utilizando la cinética de reacción.

- **Identificar la señal de deterioro**

Para la identificación de la señal de deterioro consistió primero en identificar los parámetros que influyeron sobre la calidad del pan. Basado en estudios preliminares y con sustento de revisión bibliográfica (Chiavaro *et al.* 2008; Le-Bail *et al.* 2009; Sourki *et al.* 2010; Galić *et al.* 2019), se eligió evaluar la humedad, firmeza y actividad de agua de la miga del pan.

- **Presumir un rango de tiempo de vida**

Se reportan estudios de Paciulli *et al.* (2016) durante tres días, Axel *et al.* (2015) y Moore *et al.* (2008) durante cinco días, Hager *et al.* (2012) durante 12 días, Salvador *et al.* (2006) durante 20 días, en esta investigación se evaluó durante 12 días.

- **Establecer la metodología a seguir**

El Institute of Food Technologists (IFT) de los EE.UU menciona que los productos perecibles son todos aquellos que pueden mantenerse solo por un corto tiempo (Dethmers 1979 citado por Vergara (2012), en la presente investigación la vida útil se determino con pruebas en tiempo real.

- **Controles a realizar**

En esta investigación se realizaron análisis físico-químicos (humedad, a_w y firmeza) de la miga del pan de molde sin gluten con quinua.

- **Límites establecidos**

Para humedad (bs) es 0,9267, actividad de agua (a_w) 0,9223 y firmeza 6,4 kPa. La estimación de valores críticos antes mencionados para el pan de molde sin gluten con quinua se realizó relacionando el parámetro físico-químico (humedad en base seca, actividad de agua y firmeza) con el puntaje de la evaluación sensorial obtenido de un panel de consumidores. Kulchan *et al.* (2010), Pua *et al.* (2008) y Muñoz *et al.* (1992) mencionan que este parámetro se puede determinar cuando la aceptación general caiga por debajo de un cierto valor predeterminado, para la presente investigación se estableció como puntaje mínimo cinco (5), por debajo del cual el pan de molde sin gluten con quinua se rechaza.

- **Planificación del experimento**

Las muestras de pan del molde sin gluten con quinua (450 g aproximadamente) fueron envasadas en bolsas de polietileno y polipropileno termoselladas, se almacenaron a 25 °C con una humedad relativa de 80 por ciento y el muestreo se realizó en los días: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10 y 12; se realizaron tres repeticiones.

- **Proceso de datos**

El orden de reacción (n) para cada parámetro se eligió basándose el que tenía mayor coeficiente de determinación (R^2) (Mancebo-Campos *et al.* 2008). Para el análisis de la velocidad de reacción k (días⁻¹) se realizó usando el método de mínimos cuadrados, teniendo en cuenta que los modelos se ajustan a la ecuación de una línea recta de la forma $y= mx + b$, donde m es la pendiente que equivale a la constante k. Saguy (1983), el modelo más utilizado para obtener k es el de los mínimos cuadrados, obtenido los parámetros de la cinética de reacción se procedió a determinar el tiempo de vida útil utilizando la Ecuación 4 o 5.

3.5.4 Modelamiento y predicción de la vida útil por pérdida de humedad

Para la predicción de vida útil por pérdida de humedad se utilizó la metodología propuesta por Labuza y Risbo (1982) y (Guillard *et al.* 2003) mostrada en la Figura 8.

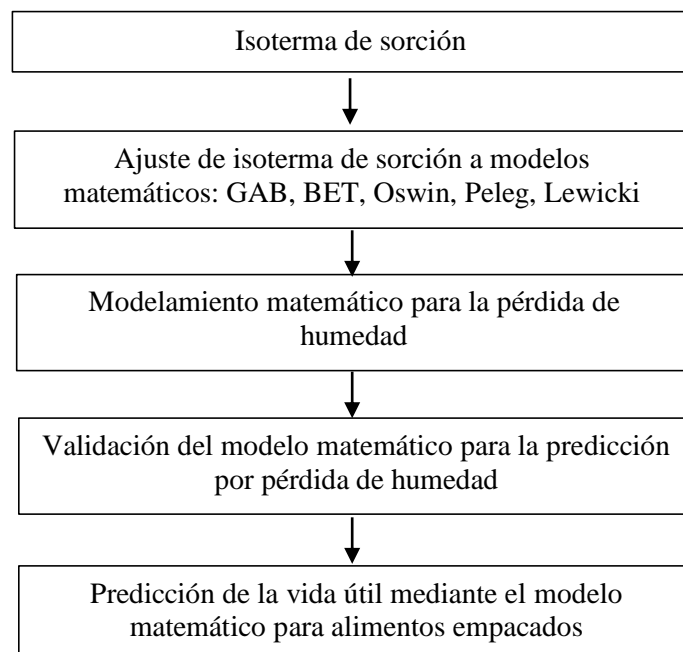


Figura 8: Metodología experimental para la predicción de la vida útil del pan de molde sin gluten con quinua, por pérdida de humedad.

- **Isoterma de sorción**

La construcción de la isoterma de sorción se efectuó por el método estático gravimétrico o método de control continuo de cambios de peso reportado por Bell y Labuza (2000) y Pérez-Alonso *et al.* (2006). El método consistió en lo siguiente: Muestras de 1 g de miga de pan de molde se depositaron en placas petri y éstas fueron puestas por triplicado en campanas de desecación herméticas conteniendo las siguientes soluciones sobresaturadas con su humedad relativa correspondiente: MgCl₂ (32,8%), K₂CO₃ (44,3%) y Mg (NO₃)₂ (53,6%), NaCl (75,3%), y KCl (84,3%) y KNO₃(94.6%). Las muestras se almacenaron en las campanas a una temperatura de 25 °C por dos semanas y se registró el peso de las placas hasta una variación menor de 1 mg, como lo recomienda Pérez-Alonso *et al.* (2006). La humedad de equilibrio fue determinada por la diferencia entre la masa de la muestra en equilibrio y su masa seca, tal como lo describe Fiorentin *et al.* (2010) mediante la siguiente Ecuación 8.

$$X_e = \frac{m_{eq} - m_s}{m_s} \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde:

X_e: Humedad de equilibrio (g agua/g m.s)

m_{eq}: Masa de la muestra en equilibrio (g)

m_s: Masa de la muestra seca (g)

Cuando se alcanzó el equilibrio, se determinó la humedad de la muestra (X_e) para cada sal utilizando el método estándar 206.011 (NTP 2018). Los cálculos de los valores de humedad de equilibrio fueron realizados para cada una de las placas petri, obteniéndose por último la media aritmética de las tres repeticiones para cada solución salina saturada.

- **Ajuste de isotermas de sorción a modelos matemáticos**

Los valores de humedad en base seca (bs) y actividad de agua(a_w), se ajustaron por regresión a los modelos matemáticos de sorción que se muestran en la Tabla 10, se usó el *software* LAB FIT versión 7.2.50. Los criterios utilizados para evaluar la calidad de ajuste de los modelos de isotermas a los datos experimentales fueron: el coeficiente de determinación (R²) y el error relativo medio ERM (%).

Tabla 10: Modelos de isotermas de sorción de humedad

Modelo	Expresión matemática	Parámetros	Ecuación
BET	$X_e = \frac{X_m C a_w}{(1 - a_w)[1 + (C - 1)a_w]}$	X_m : Humedad de la monocapa (g agua/g.m.s) C : Constante BET relacionada con el calor de sorción	Ecuación 9
GAB	$X_e = \frac{X_m C K a_w}{(1 - K a_w)[1 + (C - 1)K a_w]}$	X_m : Humedad de la monocapa (g agua/g.m.s) C : Constante de Guggenheim, característica del producto y relacionada con el calor de adsorción de la monocapa K : Factor de corrección relacionado con el calor de sorción de la multicapa.	Ecuación 10
Lewicki	$X_e = \left[\frac{F}{(1 - a_w)^G} \right] - \left[\frac{F}{(1 + a_w^H)} \right]$	F, G, H : Constantes de Lewicki	Ecuación 11
Oswin	$X_e = A \left(\frac{a_w}{1 - a_w} \right)^B$	A y B : Constantes propias del modelo y características para cada alimento	Ecuación 12
Peleg	$X_e = k_1 a_w^{n_1} + k_2 a_w^{n_2}$	k₁, k₂, n₁ y n₂ : Constantes de Peleg	Ecuación 13

Donde:

X_e: Humedad de equilibrio (g agua/g m.s.)

a_w: Actividad de agua

- **Modelamiento matemático para la predicción de pérdida de humedad**

Se realizó utilizando el modelo matemático de transferencia de masa, considerando: parámetros del modelo de isoterma que mejor se ajusta a los datos experimentales, permeabilidad del empaque, condiciones de temperatura y humedad relativa de almacenamiento.

Labuza y Risbo (1982) presentaron un modelo basado en la Ley de Fick y de Henry para estudiar la cinética de pérdida de humedad de alimentos empacados a temperatura constante:

$$-\frac{dM}{dt} = \frac{Kw}{x} A(p_{ext} - p_{int}) \quad \text{Ecuación 14}$$

Donde:

dM/dt: Velocidad de transferencia de agua, en gramos de agua ganada o perdida por día

Kw/x: Permeabilidad al vapor de agua r (g de agua/día. m². mmHg)

A: Área de exposición del empaque (m²)

p_{ext}: Presión de vapor de agua del medio ambiente, en mmHg

p_{int}: Presión de vapor de agua del alimento, en mm Hg

La pérdida o ganancia de humedad a través de un empaque, depende de la isoterma de sorción del alimento, las condiciones de temperatura, humedad relativa de almacenamiento, y la permeabilidad al vapor de agua del empaque (Cardoso y Labuza 1983).

- **Validación del modelo matemático para la predicción de pérdida de humedad**

El peso del pan de molde sin gluten con quinua fue evaluado durante 12 días de almacenamiento. Las humedades en base seca fueron calculadas empleando los pesos y la humedad inicial. La bondad de ajuste de los tiempos experimentales a los estimados, fue establecido considerando el porcentaje de error relativo medio ERM (%) definido como:

$$ERM(\%) = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^p \frac{(y_{ex} - y_{pred})}{y_{ex}} \times 100 \quad \text{Ecuación 15}$$

Donde:

y_{ex}: Valor experimental

y_{pred}: Valor predicho por el modelo

n: Número de datos o puntos

- **Predicción de la vida útil mediante el modelo matemático para alimentos empacados**

La predicción de la vida útil para panes de molde sin gluten con quinua empacados en polipropileno y polietileno se realizó utilizando la Ecuación 7. Labuza (1982) y Risbo (2003), la vida útil del producto se alcanza cuando $m = m_c$, el contenido crítico de humedad en cuyo momento t es el tiempo de vida útil.

3.5.5 Determinación de la vida útil mediante análisis de supervivencia

Esta metodología se enfoca en el rechazo del producto por parte del consumidor. Para realizar la determinación de vida útil por análisis supervivencia se usó la siguiente secuencia propuesta por Gacula y Shingh (1984); Hough *et al.* (2003):

- Evaluación sensorial
- Ajuste de datos para la distribución Weibull y determinación de parámetros.
- Determinación de la bondad de ajuste
- Determinación del valor esperado
- Determinación del intervalo de confianza
- Determinación de las funciones características de la distribución de Weibull.
- **Evaluación Sensorial**

Se efectuó con pan de molde sin gluten con quinua envasados en bolsas polietileno y polipropileno en los días: 1, 2, 3, 4 y 5; se evaluaron mediante un análisis sensorial de aceptación y rechazo (Hough *et al.* 2003) y se utilizó la ficha mostrada en la Figura 6, utilizando consumidores frecuentes de pan.

- **Ajuste de datos para la distribución Weibull y determinación de parámetros**

Para la identificación del ajuste de la distribución Weibull se realizó mediante el índice de Anderson Darling, utilizando el *software* MINITAB.

Los parámetros de la distribución de Weibull se obtuvieron estableciendo una relación lineal entre $t(H)$ y H , se determinó con la siguiente ecuación:

$$\ln t(H) = \ln(\alpha) + \left(\frac{1}{\beta}\right) \ln H \quad \text{Ecuación 16}$$

Donde:

t(H): Tiempo de fallo

H: Riesgo acumulado

Ln(α): Intercepto

1/ β : Pendiente

El parámetro β determina la forma de la distribución y el parámetro α determina la amplitud de la dispersión. A partir de los parámetros de la distribución se calcula el valor esperado.

- **Bondad de ajuste**

El test de Kolmogorov-Smirnov (K-S) es recomendado para determinar la bondad de ajuste y se realizó esta prueba a un nivel de confianza del 95% (Gacula y Shingh 1984).

- **Determinación del valor esperado**

El valor esperado $E(t)$, o el valor medio para la distribución de Weibull se obtuvo con la siguiente ecuación:

$$E(t) = \alpha \Gamma \left[1 + \left(\frac{1}{\beta} \right) \right] \quad \text{Ecuación 17}$$

Donde:

E(t): Valor esperado.

α : Parámetro de escala.

β : Parámetro de forma.

Γ : Función Gamma.

- **Determinación del intervalo de confianza**

Gutierrez y De la Vara (2008) reportan la siguiente fórmula para determinar el intervalo de confianza en regresión simple:

$$E(Y/X_0) = \bar{Y}_0 \pm t_{\left(\frac{\alpha}{2}, n-2\right)} \sqrt{CM_e \left[\frac{1}{n} + \frac{(X_0 - \bar{X})^2}{S_{xx}} \right]} \quad \text{Ecuación 18}$$

Donde:

$\bar{Y}_0 = \hat{a} + \hat{b}X_0$: Representa el estimador puntual de la recta de regresión

$t_{\left(\frac{\alpha}{2}, n-2\right)}$: Valor obtenido por la distribución t de student

α : Complemento porcentual del nivel de confianza

n: Número de observaciones

n – 2: Grados de libertad

CM_e: Cuadrado medio del error

S_{xx}: Variabilidad observada en la variable x

X̄: Media.

X₀ - X̄ : Distancia observada del valor con respecto a la media.

El intervalo de confianza ofrece un intervalo de valores razonables dentro del cual se pretende que esté el parámetro de interés, con un cierto grado de confianza, generalmente el 95 por ciento.

- **Determinación de funciones características de la distribución Weibull**

Una vez determinados los parámetros α y β mediante la Ecuación 16, se encontraron las funciones características de la distribución de Weibull:

a) Función de Supervivencia o de Confiabilidad fue hallada con la siguiente ecuación:

$$S(t) = 1 - F(t) \quad \text{Ecuación 19}$$

$$S(t) = e^{-\left(\frac{t}{\alpha}\right)^\beta} \quad \text{Ecuación 20}$$

Donde:

S(t): Función de supervivencia o de confiabilidad

F(t): Función de fallo

b) Función de Distribución Acumulativa o Función de Fallo fue hallada con la siguiente ecuación:

$$F(t) = 1 - e^{-\left(\frac{t}{\alpha}\right)^\beta} \quad \text{Ecuación 21}$$

3.6 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.6.1 Diseño experimental

En el presente trabajo de investigación se analizó el factor material de empaque con dos tratamientos (polietileno y polipropileno) como se muestra en la Tabla 11. Las variables respuestas fueron: Humedad (bs), actividad de agua, firmeza (kPa) de la miga y aceptación general.

Tabla 11: Diseño experimental

Producto	Material	Análisis físico-químicos y sensorial	Determinación de la vida útil	Vida útil
Pan de molde sin gluten con quinua	Polietileno	Humedad (bs), a_w y firmeza	Vida útil mediante la cinética de reacción en polietileno	Vida útil mediante la cinética de reacción
	Polipropileno	Humedad (bs), a_w y firmeza	Vida útil mediante la cinética de reacción en polipropileno	
Pan de molde sin gluten con quinua	Polietileno	Pérdida de humedad (bs)	Vida útil mediante la pérdida de humedad (bs) en polietileno	Vida útil mediante migración de humedad
	Polipropileno	Pérdida de humedad (bs)	Vida útil mediante la pérdida de humedad (bs) en polipropileno	
Pan de molde sin gluten con quinua	Polietileno	Aceptación sensorial	Vida útil mediante análisis de supervivencia en polietileno	Vida útil mediante análisis de supervivencia
	Polipropileno	Aceptación sensorial	Vida útil mediante análisis de supervivencia en polipropileno	
Análisis proximal, volumen específico, estructura alveolar	Empaque: área, permeabilidad y espesor	Humedad, a_w (Altamirano-Fortoul y Rosell 2011), firmeza (Paciulli <i>et al.</i> 2016) y aceptación sensorial (Ureña <i>et al.</i> 1999) (Hough <i>et al.</i> 2007)	Cinética de reacción ((Labuza y Schmidl 1985), migración de humedad (Labuza y Risbo (1982) y Guillard <i>et al.</i> (2003) y análisis de supervivencia (Gacula y Shingh 1984); Hough <i>et al.</i> (2003))	Vida útil para cada método empleado

3.6.2 Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados físico-químicos y sensorial del pan de molde sin gluten con quinua, se ejecutó mediante una prueba de comparación t-student y se determinó si el material de empaque influyó en el tiempo de vida útil del pan de molde sin gluten con quinua. Todos los análisis estadísticos se realizaron aplicando un nivel de significancia del 0,05 en el *software* STATGRAPHICS PLUS.

Para el ajuste del cambio de la humedad de equilibrio con la actividad de agua a los modelos de isoterma (Tabla 10) se realizó con el *software* LAB Fit y se reportaron el valor del coeficiente de determinación (R^2) de la regresión para evaluar el ajuste y el error relativo medio porcentual definido en la Ecuación 15.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERIZACIÓN DEL PAN DE MOLDE SIN GLUTEN CON QUINUA

4.1.1 Composición químico proximal

En la Tabla 12 se muestra la composición químico proximal del pan de molde sin de gluten con quinua, expresado en base húmeda.

Tabla 12: Composición proximal del pan de molde sin gluten con quinua

COMPONENTE	PORCENTAJE (%)
Carbohidratos	49,00
Humedad	42,25
Proteína cruda	3,18
Grasa cruda	3,08
Cenizas totales	1,89
Fibra cruda	0,60

Resultados similares fueron reportados por: Machado Alencar *et al.* (2015); Sayed *et al.* (2016); Stikic *et al.* (2012); Rizzello *et al.* (2016) y Wang *et al.* (2015), donde los carbohidratos totales se encuentran entre 30,66 - 59,90 por ciento, en la humedad reportan valores entre 34,24 - 55,2 por ciento, en proteína valores entre de 3,30 - 11,60 por ciento, en las cenizas valores entre 0,58 - 2,60 por ciento, la grasa cruda valores entre 0,9 - 6,07 por ciento y la fibra cruda entre valores de 0,3 - 2,04 por ciento. La razón fundamental para la incorporación de granos andinos a productos de panadería se debe principalmente por sus ventajas nutricionales. Un ejemplo de esto fue visto cuando la suplementación de harina de trigo con 20 por ciento harina de quinua enriquece los contenidos de lisina, metionina e histidina (aminoácidos esenciales) en 26,5, 8,8 y 9,8 por ciento, respectivamente (Stikic *et al.* 2012). El valor energético fue de 237,9 Kcal/100g en la presente investigación, al respecto, Machado Alencar *et al.* (2015) reportaron valores entre 225,98 - 261,91 Kcal/100g.

Una de las características morfológicas más importantes de la quinua es que el embrión rodea el perisperma (Schoenlechner *et al.* 2008). Durante las etapas previas a la molienda, así como

la trilla y limpieza, algunas partes del embrión se pueden desprender de la semilla ocasionando una disminución en el contenido de proteína.

Pereira *et al.* (2014) y Stikic *et al.* (2012) también observaron variaciones en el contenido de nutrientes de la quinua y derivados cuando se someten a diferentes procesos tecnológicos. La cocción, al provocar desnaturalización y coagulación de las proteínas globulares, dejarían los aminoácidos hidrófobos en la superficie y como consecuencia de la mayor exposición se reduciría la solubilidad provocando pérdidas durante la cocción (Fenema 2000).

Alvarez-Jubete *et al.* (2009) estudiaron las pérdidas de vitamina E luego de la cocción de panes sin gluten elaborados con 50 y 100 por ciento de harina de granos andinos (pan control con trigo y pan control sin de gluten), encontrando pérdidas que oscilaron entre el 7 y 30 por ciento para panes sin gluten, a excepción del pan de trigo donde las pérdidas alcanzaron el 47,6 por ciento. Además, encontraron una correlación negativa entre el contenido inicial de tocoferoles y la pérdida luego del horneado. Las pérdidas fueron atribuidas tanto a la oxigenación durante el amasado y la destrucción por calor durante el horneado, como al contenido inicial de tocoferoles y la presencia diferencial de sustancias con capacidad antioxidante. El calentamiento en seco (horno) produce una disminución del 40 por ciento de Metionina, 7 por ciento de la Lisina y 20 por ciento de Triptófano (IIAI 1977).

4.1.2 Volumen específico

Se encontró el valor de $1,77 \pm 0,006 \text{ cm}^3/\text{g}$, al respecto autores Pongjaruvat *et al.* (2014); Gujral y Rosell (2004); Shah *et al.* 2006); Alaunyte *et al.* (2012) y Zhang *et al.* (2014) reportaron valores entre 1,6 - 3,75 cm^3/g para panes sin gluten. El valor de la investigación se encuentra dentro de lo reportado por los autores. Chen *et al.* (1988) señalaron que la diferencia de volúmenes específicos puede deberse al tiempo de horneado. Zanoni y Peri (1993), a mayor tiempo de horneo mayor será el volumen específico y está directamente relacionada con el aumento de altura. También, el volumen depende principalmente del tiempo de fermentación, cantidad de levadura y las condiciones del proceso (He y Hosney 1990; Hayman *et al.* 1998).

Lorenz y Coulter (1991); Park y Morita (2005) mencionan que la harina de quinua no tiene una proteína formadora de gluten como la harina de trigo y la reducción en el volumen del

pan se debe a un efecto de dilución del gluten y/o al aumento de la proteína alcalina insoluble que está fuertemente correlacionada con una mala calidad de mezcla de la masa.



Figura 9: Determinación del volumen específico.

La aptitud tecnológica de la quinua y otros granos andinos para la panificación se ve limitada por la ausencia de gluten, un material proteico cohesivo que confiere a la masa la capacidad de mantener gas producido por la levadura durante la fermentación, lo cual causa un aumento de volumen resultando en la típica miga abierta y estructura esponjosa del pan después del horneado (Moroni *et al.* 2009; Lamacchia *et al.* 2010; Alaunyte *et al.* 2012). Así mismo la goma xantano y la goma guar son hidrocoloides polisacáridos que tienen excelentes propiedades reológicas de interés para su uso en alimentos, ayudan a la retención de gas y el aumento de volumen específico de productos de panadería sin gluten (Turabi *et al.* 2008).

La quinua como sustrato de fermentaciones difiere de los cereales por la presencia de compuestos antimicrobianos como saponinas y taninos, un perfil de aminoácidos diferente al de los cereales, especialmente alto en lisina y treonina (Vogelmann *et al.* 2009), un mayor contenido de grasa (Coda *et al.* 2010) y un alto contenido de cenizas que puede actuar como amortiguador del pH (Arendt y Dal Bello 2008).

4.1.3 Estructura de la miga

Se encontró un valor de $4,27 \pm 1,90 \text{ mm}^2$ para el área de la célula y $83,65 \pm 1,38$ (número de alveolos/cm²), en el Anexo 2 se muestra los valores obtenidos para el análisis. Al respecto Altamirano-Fortoul y Rosell (2011); Machado Alencar *et al.* (2015) y Hager *et al.* (2012)

reportaron valores entre 0,65 - 7,64 mm² para el área y 44,54 - 97,79 para el número de alveolos/cm².

Turkut *et al.* (2016), un nivel de remplazo de harina de quinua más alto provoca la distribución más pequeña del tamaño de partícula en el pan. Matos y Rosell (2013) indican que se puede encontrar una gran variedad de estructura entre los panes sin gluten, algunos presentan un área alveolar más grande y otros un mayor número de alvéolos, este hecho se debe a la diversidad de ingredientes agregados a la masa. Schiraldi y Fessas (2000), la miga rica en proteínas provoca alvéolos estrechos y regulares, así como que se encuentran bien separados entre sí.



Figura 10: Imágenes de la estructura alveolar de panes de molde sin gluten con quinua.

Masure *et al.* (2019) y Fleming y Sosulski (1978) señalaron que durante la cocción ocurren diferencias de presión, que en los productos sin gluten no se puede tolerar por lo que el volumen y la estructura de la miga del pan sin gluten están determinados por el equilibrio entre el momento de la apertura de la celda de gas y el de la configuración de la estructura de la miga. Controlar este equilibrio permite afectar el volumen y la estructura de la miga de los panes sin gluten. Es así que en los puntos más débiles que cubren los gránulos de almidón se producen poros más pequeños con pequeñas celdas de gas. En las imágenes de la Figura 10 también se observa una estructura de la miga menos homogénea (alveolos grandes y pequeños).

Altamirano-Fortoul y Rosell (2011) determinaron que con la presencia de harina de centeno en su formulación cada miga pan tenían una estructura significativamente diferente ($p < 0.05$)

con espacios vacíos muy grandes o celdas de gas como la chapata, el pan blanco, el pan rústico y la “chapata” pequeña.

4.2 VIDA ÚTIL DETERMINADA A PARTIR DE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

La determinación de la vida útil mediante la cinética de reacción para cada parámetro se describe a continuación.

- **Humedad de la miga (bs)**

En la Tabla 13 se muestra la variación de humedad de la miga (bs) respecto al tiempo para muestras de pan de molde sin gluten con quinua almacenadas a 25 °C y 80 por ciento de HR en bolsas de polipropileno y polietileno. Se realizó una prueba (t) de comparaciones entre medias de los dos tratamientos con un α : 0,05 y se obtuvo un valor-P= 0,047 (considerando varianzas homogéneas). Los valores obtenidos indican que existe pérdida de humedad a través del tiempo y que existe diferencia estadística significativa en los panes envasados en polipropileno y polietileno. El análisis estadístico se muestra en el Anexo 3.

Tabla 13: Variación de la humedad de la miga (bs) del pan sin gluten con quinua durante el almacenamiento

Día de almacenamiento	Polipropileno	Polietileno
	bs	bs
0	92,90% ± 0,43	92,90% ± 0,43
1	92,85% ± 0,09	92,80% ± 0,35
2	92,80% ± 0,24	92,68% ± 0,33
3	92,71% ± 0,30	92,60% ± 0,37
4	92,60% ± 0,04	92,46% ± 0,46
5	92,55% ± 0,31	92,16% ± 0,57
6	92,30% ± 0,14	91,88% ± 0,30
10	92,17% ± 0,35	91,50% ± 0,20
12	92,04% ± 0,38	90,87% ± 0,53

La diferencia se debería a que la permeabilidad para el polipropileno es de 1,2433 y 1,4505 g.agua/ m².día.mmHg para el polietileno, con un espesor de 50,8 micras para cada envase. (Banu 2000), el polipropileno tiene una mayor contracción, una mejor transparencia y

mejores propiedades mecánicas que el polietileno, además la permeabilidad a los vapores de agua y gas es menor que la del polietileno. Esta sería la razón por la que existe una mayor pérdida de humedad en el polietileno durante el almacenamiento

En la Tabla 13 también se observa que existe una mayor variación del contenido de humedad en el polietileno en comparación con el polipropileno, siendo un valor final al día 12 en el polietileno $90,87 \pm 0,53$ y $92,04 \pm 0,38$ por ciento para el polipropileno. Resultados similares fueron observados por Cioban *et al.* (2010) quienes comprobaron que el pan envasado en polipropileno contenía un mayor grado de humedad en comparación con el polietileno. Así como, Paciulli *et al.* (2016) demostraron que el contenido de humedad de la miga varía muy poco durante el almacenamiento y es mayor al final de su vida útil (día 5).

Para Galić *et al.* (2019), los alimentos envasados en el almacenamiento están expuestos a gases presentes en el medio ambiente (vapor de agua, oxígeno), así como a condiciones (temperatura, humedad) que puede afectar seriamente la vida útil de los alimentos. Por lo tanto, la velocidad de difusión de gases a través de la película del paquete puede convertirse en el factor limitante para lograr una vida útil adecuada. Además, un buen envase debe evitar la pérdida de humedad del pan, así como la formación de una corteza de consistencia dura y coriácea.

La retrogradación se relaciona de manera directa con el envejecimiento del pan. En el pan fresco, el polímero ramificado (amilopectina) tiene todas sus ramas completamente extendidas mientras que en el pan duro están retrogradadas, unidas entre sí y sin el agua original. Badui (2006) menciona que durante el almacenamiento puede ocurrir que las macromoléculas (agua, carbohidratos, proteínas y lípidos) interaccionen entre sí y pierdan su capacidad de retención de agua, esto ocasiona que las moléculas de agua que ya no son retenidas se desprendan de la matriz del gel y emigren a la superficie. Este fenómeno se conoce como sinéresis, lo cual indica exudación o liberación de agua causada por un reacondicionamiento interno de las macromoléculas.

La tasa de aceleramiento depende del contenido de humedad. He y Hosney (1990) observaron un envejecimiento más lento en panes más ricos en agua. Calaveras (1996), la goma xantano es un emulsionante que se usa para aumentar la retención de agua durante el

horneado y almacenamiento, extiende la vida útil, retarda la retrogradación del almidón y mejora la suavidad del producto.

- **Actividad de agua de la miga**

En la Tabla 14 se muestra la variación de la actividad de agua de la miga respecto al tiempo para muestras de pan de molde sin gluten con quinua almacenado a 25 °C y 80 por ciento de HR en bolsas de polipropileno y polietileno. Se realizó una prueba(t) de comparaciones entre medias de los dos tratamientos con un α : 0,05 y se obtuvo un valor-P= 0,036 (considerando varianzas homogéneas). Los valores obtenidos indican que la a_w disminuye conforme incrementa los días de almacenamiento y que existe diferencia estadística significativa en los panes envasados en polipropileno y polietileno. El análisis estadístico se muestra en el Anexo 4. Lamiani *et al.* (2010), la humedad relativa del espacio de cabeza del empaque no se equilibra inmediatamente con el producto.

Tabla 14: Variación de la a_w de la miga del pan sin gluten con quinua durante el almacenamiento

Día almacenamiento	Polipropileno	Polietileno
0	0,9279 ± 0,0001	0,9279 ± 0,0001
1	0,9267 ± 0,0007	0,9262 ± 0,0008
2	0,9261 ± 0,0007	0,9254 ± 0,0004
3	0,9257 ± 0,0031	0,9191 ± 0,0028
4	0,9209 ± 0,0004	0,9153 ± 0,0007
5	0,9176 ± 0,0008	0,9144 ± 0,0036
7	0,9153 ± 0,0021	0,9103 ± 0,0007
10	0,9143 ± 0,0003	0,9074 ± 0,0006
12	0,9131 ± 0,0004	0,9034 ± 0,0003

La disminución de la actividad de agua fue mayor en el polietileno en comparación con el polipropileno durante el almacenamiento, alcanzando un valor final para el polietileno de $0,9034 \pm 0,0003$ y $0,9131 \pm 0,0004$ para el polipropileno, principalmente debido a la difusión del vapor de agua desde el entorno externo a través de los materiales de embalaje (Esse y Saari 2004). Este resultado puede explicarse por una mayor permeabilidad en el polietileno en comparación con el polipropileno.

Machado Alencar *et al.* (2015) mencionaron en su estudio sobre la adición de quinua y amaranto en panes sin gluten valores de a_w entre 0,90 - 0,92. Adicionalmente, Hager *et al.* (2012) reportaron valores en el trigo a_w : 0,967 y quinua a_w : 0,924, en la presente investigación se obtuvieron valores de a_w desde $0,9279 \pm 0.0002$ a $0,9034 \pm 0.0003$. Miranda *et al.* (2014), la actividad antimicrobiana de los fenólicos en la quinua podría extender la vida útil del pan. Sin embargo, los productos de panadería generalmente tienen una vida útil corta de solo unos pocos días a temperatura ambiente debido a su alta actividad de agua.

Badui (2006), la a_w es la cantidad de agua disponible para el crecimiento de los microorganismos y para intervenir en otras reacciones de deterioro del alimento. El pan es uno de los productos alimenticios más perecederos por su elevada actividad de agua ($>0,90$) haciendo susceptible al ataque de microorganismos. Bailey y von Holey (1993) y Jackel (1980) detallaron los principales microorganismos presentes en el pan mencionando hongos como: *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus niger* y *Penicillium expansum*, y bacterias como: *Bacillus subtilis* y *Bacillus pumilus* que causan deterioro microbiano del pan.

- **Firmeza de la miga**

En la Tabla 15 se muestra la variación de firmeza de la miga respecto al tiempo para muestras de pan de molde sin gluten con quinua almacenado a 25 °C y 80 por ciento de HR en bolsas de polipropileno y polietileno. Se realizó una prueba(t) de comparaciones entre medias de los dos tratamientos con un α : 0,05 y se obtuvo un valor-P = 0,088 (considerando varianzas homogéneas). Los valores obtenidos indican que la firmeza (kPa) aumenta conforme incrementa los días de almacenamiento y que no existe diferencia estadística significativa entre los materiales de polipropileno y polietileno. El análisis estadístico se muestra en el Anexo 5. En la Tabla 15 también se observa que existe una mayor variación de la firmeza en el polietileno en comparación con el polipropileno, siendo en el día 12 un valor de $10,75 \pm 2,19$ kPa para el polietileno y $9,17 \pm 1,37$ kPa para el polipropileno. Singh y MacRitchie (2001) obtuvieron los siguientes valores de dureza para productos sin gluten: quinua (9,5 kPa), arroz (9,1 kPa) y harina de mijo (9,1 kPa). Giannou y Tzia (2007) observaron que cuando se incrementa la cantidad de harina de quinua en la formulación aumenta la dureza de la miga y la masticabilidad.

Tabla 15: Variación de la firmeza (kPa) de la miga del pan de molde sin gluten con quinua durante el almacenamiento

Día almacenamiento	Polipropileno(kPa)	Polietileno(kPa)
0	6,18 ± 0,98	6,18 ± 0,98
1	6,24 ± 0,26	6,31 ± 0,33
2	6,31 ± 0,36	6,45 ± 0,54
3	6,42 ± 0,81	6,51 ± 1,27
4	6,44 ± 0,43	6,65 ± 0,76
5	6,72 ± 0,95	7,44 ± 1,62
7	7,66 ± 1,74	8,26 ± 2,44
10	8,29 ± 1,89	9,57 ± 2,86
12	9,17 ± 1,37	10,75 ± 2,19

Alvarez-Jubete *et al.* (2009) también encontraron que los panes hechos con harina de quinua tienen una dureza de miga comparativamente más alta que los panes con harina de trigo sarraceno. Gallagher *et al.* (2003) y He y Hosney (1990) indicaron que los panes sin gluten tienen una estructura de miga apretada y mayores valores para la firmeza de la miga. Houben *et al.* (2012) señalaron que los panes sin gluten que contienen granos andinos muestran una textura desmoronada como consecuencia de la falta de la red viscoelástica formada por el gluten, además provocan un incremento de la dureza.

Smith (1993), los envases deben mantener el nivel de humedad en los productos que es un parámetro crítico que controla el envejecimiento del pan, los cambios en textura y apariencia física. Los valores experimentales obtenidos demuestran un estrecho vínculo con la permeabilidad, puesto que se observa mayor firmeza(kPa) para el polietileno, el cual tiene mayor valor de permeabilidad (1,4505 g agua/ m².día.mmHg).

Muchos estudios han sugerido que el endurecimiento es debido a la migración de la humedad desde la miga a la corteza y más específicamente desde el almidón hinchado al gluten. Sin embargo el endurecimiento no es debido simplemente a una pérdida o migración de la humedad (Kulp y Ponte 1981). El mecanismo de endurecimiento del pan se puede clasificar en dos fases (Schiraldi y Fessas 2000): endurecimiento de la corteza y endurecimiento de la miga. El de la corteza es producido generalmente por la transferencia de la humedad desde la miga a la corteza (Lin y Lineback 1990), lo que resulta en una textura blanda, correosa y es generalmente menos censurable que el endurecimiento de la miga (Newbold 1976). El endurecimiento de la miga es más complejo, más importante y menos comprendido.

- **Microbiológico**

En la Tabla 16 se muestran los valores para el recuento microbiológico (mohos) del pan de molde sin gluten con quinua respecto al tiempo almacenado a 25 °C y 80 por ciento de humedad relativa en bolsas de polipropileno y polietileno. Se observó que hasta el día cuatro para ambos empaques el valor era menor de 10 UFC/g. Los valores determinados en la presente investigación corresponden a productos sin gluten y son comparados con los establecidos en la RM 1020-2010/ MINSA para productos con gluten debido a no existir normativa local para productos sin gluten, en ambos casos supera los valores de mohos a los siete días ya que el límite máximo establecido es de 1×10^3 UFC/g. Hager *et al.* (2012) mencionaron que los mohos se desarrollan fácilmente y son evidenciables entre el día cuatro y seis.

Los panes envasados son más susceptibles al deterioro por mohos debido a que el envase evita la pérdida de humedad del pan permitiendo una atmósfera húmeda, que promueve el crecimiento de moho en una costra empapada (Magan *et al.* 2012). En la presente investigación la diferencia en el crecimiento de UFC/g de mohos se debería a la permeabilidad en el polipropileno es 1,2433 y 1,4505 g agua/ m².día.mmHg para el polietileno con un espesor de 50,8 micras para cada envase, por ende, el polipropileno mantendría más humedad en el producto lo que lo hace ideal para el mayor crecimiento de mohos. Cioban *et al.* (2010) manifestaron que para pan envasado (polietileno y polipropileno) en polipropileno contenía un mayor grado de contaminación, principalmente producido por dos especies de moho: *Penicillium nigricans* y *Penicillium frequentans*.

Tabla 16: Valores del recuento microbiológico (UFC/g) del pan sin gluten con quinua durante el almacenamiento

Día almacenamiento	Polipropileno	Polietileno
0	< 10	< 10
1	< 10	< 10
2	< 10	< 10
3	< 10	< 10
4	< 10	< 10
5	40	10
6	10×10^2	90
7	$5,7 \times 10^3$	$2,1 \times 10^3$

La presencia de UFC/g de mohos en polipropileno y polietileno se ralentizó hasta el día cinco. Resultados similares fueron encontrados por Karaoglu *et al.* (2005) quienes señalaron que la adición de propionato de calcio en pan causó una disminución en los números de mohos y esporas (*Bacillus*) retardando su visualización de mohos hasta el día cinco de almacenamiento. Cioban *et al.* (2010) manifestaron que el pan envasado en polietileno los mohos aparecían al quinto día y en el polipropileno entre el tercer y cuarto día.

Los propionatos son muy adecuados para controlar el deterioro de mohos en productos de panadería, en la presente investigación se añadió 0,3 por ciento. Boyaval y Corre (1995) recomendaron que el propionato de calcio se puede usar entre 0,1 y 1,0 por ciento en peso; en una cantidad de 0,35 por ciento en el pan es digerido y metabolizado sin problema por el organismo humano, además no hay residuos dañinos en el cuerpo ni cambios en las características sensoriales del alimento (Rjson y Gaynor 2018). El propionato de calcio se convierte en calcio y propionato. El propionato reacciona con el agua para formar ácido propiónico, además, el propionato de calcio provoca una disminución del pH intracelular e inhibe enzimas y microorganismos (Lin y Chen 1995). Magan *et al.* (2012) observaron que el uso de propionato de calcio ralentizó la aparición de mohos en panes sin gluten.

Murat *et al.* (2005), durante el proceso de cocción la temperatura interior no supera los 100 °C, las bacterias y las esporas de mohos permanecen en estado latente. (Rosenkvist y Hansen 1995) indicaron que las esporas de *Bacillus* podrían ser resistentes a temperaturas entre 97 - 101 °C. Las esporas podrían sobrevivir debido a que todas las partes del pan no alcanzan las mismas temperaturas en el horneado. Soledispa y Morán (2013), durante el enfriamiento y el envasado puede producirse una re-contaminación y provocar un crecimiento, su evidencia se puede ver debajo del envoltorio durante el almacenamiento.

Legan y Voysey (1991), el 60 por ciento del deterioro de los productos de panadería se atribuye a los mohos, mientras que las levaduras representaron solo el 15 por ciento. Aparte desde la visión incómoda del crecimiento de mohos visible en el pan, los hongos son responsables del desarrollo de sabor desagradable, la producción de micotoxinas y los compuestos alergénicos se pueden formarse incluso antes de que los mohos se hagan visibles (Nielsen y Rios 2000).

- **Estimación de valores críticos**

En la Figura 11 se muestra la relación entre los valores promedios de firmeza (kPa) y aceptabilidad general, se obtuvo un coeficiente de determinación (R^2) de 0,9178 y un coeficiente de correlación de 0,9580. La correlación entre la medición de la calidad de un alimento dada por el consumidor y la aceptabilidad del mismo alimento, fue estudiada por Cardello *et al.* (1996), resultando un coeficiente de correlación superior a 0,92. No cabe duda de que la calidad de un alimento está definida por la percepción que de ella tenga el consumidor y que esta percepción está muy ligada a lo que al consumidor le gusta.

El límite de aceptabilidad es definido como el nivel de calidad que discrimina a los productos que aún son aceptables para el consumo de los que no lo son (Lanzocco *et al.* 2010). Para cada alimento existe un tiempo finito después de su producción durante el cual el producto mantendrá el nivel requerido de calidad y de seguridad bajo determinadas condiciones de almacenamiento (Nicoli 2012).

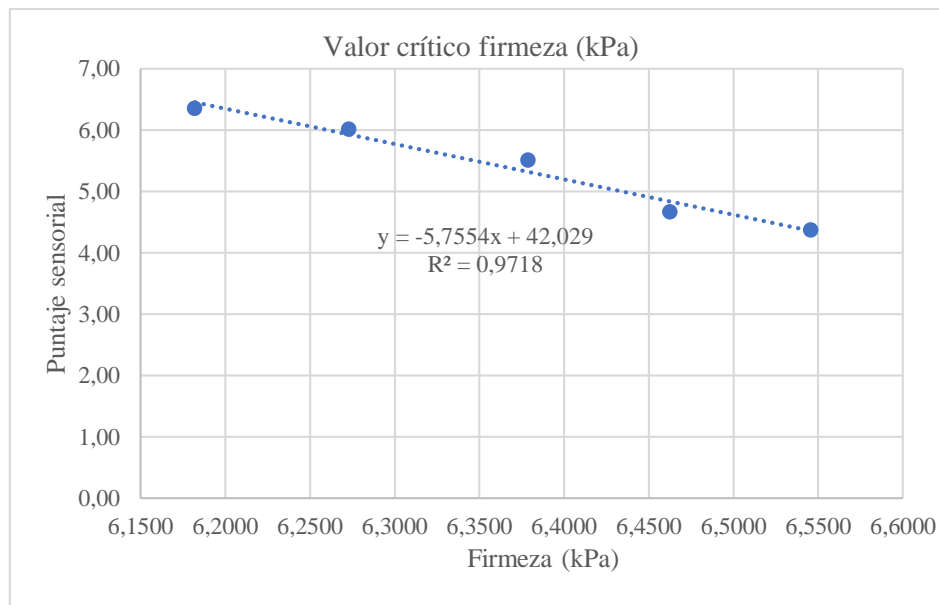


Figura 11: Regresión lineal entre los valores de aceptabilidad general y firmeza (kPa).

De la regresión se obtiene:

$$Puntaje\ Sensorial = -5,7554(Firmeza) + 42,029 \quad \text{Ecuación 22}$$

En la Ecuación 22 obtenida, reemplazamos el puntaje sensorial por el valor de 5 para obtener la firmeza crítica (F_c).

$$\text{Firmeza crítica} = \frac{(5 - 42,029)}{-5,7554} = 6,4338 \text{ kPa} \quad \text{Ecuación 23}$$

Para la firmeza se tuvo un valor crítico de 6,4338 kPa, por lo tanto, un valor superior a este valor indicaría un cambio significativo en la aceptabilidad del producto. Hough y Fiszman (2005), los valores críticos se emplean para determinar el tiempo de vida útil en las condiciones de almacenamiento de interés. Los valores críticos para cada parámetro se muestran en la Tabla 17 y en el Anexo 6 se detalla el proceso para encontrar los mismos.

Tabla 17: Valores críticos para cada parámetro de la miga del pan de molde sin gluten con quinua

Parámetro	Valor
Humedad miga (bs)	0,9267
Actividad de agua (a_w)	0,9223
Firmeza (kPa)	6,4338

En el presente trabajo de investigación se realizó todo este análisis para encontrar el parámetro fisico-químico más predominante y quien determinó la vida útil mediante la cinética de reacción. Las formas de deterioro pueden ser descritas mediante modelos matemáticos útiles para expresar los cambios en la calidad. La importancia de estos modelos radica en que proporciona vías objetivas para medir la calidad y determinar los límites de la vida útil del alimento siempre y cuando se fundamenten en el conocimiento de los diferentes mecanismos de deterioro, así como en un análisis sistemático de los resultados (Saguy y Karel 1980), debido a que un alimento es un sistema fisicoquímico de alta complejidad que involucra numerosas variables físicas y químicas (Taoukis *et al.* 1997).

- **Vida útil determinada mediante cinética de reacción**

En la Tabla 18 se muestran los coeficientes de determinación (R^2) según el orden de reacción cero y uno, determinados con los datos de cada parámetro (humedad, a_w y firmeza), para panes envasados en polipropileno y polietileno. Las cinéticas para el polipropileno y polietileno se muestran en el Anexo 7. Labuza (1984) en la ciencia de los alimentos, los cambios de calidad suelen ser modelados por medio de una reacción de orden cero, primero o segundo.

Tabla 18: Coeficientes de determinación (R^2) según el orden de la reacción (n)

COEFICIENTES DE DETERMINACIÓN (R^2)				
PARÁMETRO	Polipropileno		Polietileno	
	n: 0	n: 1	n: 0	n: 1
Humedad (bs)	0,99061	0,99062	0,97114	0,97118
Actividad de agua (a_w)	0,91838	0,91889	0,96052	0,96167
Firmeza (kPa)	0,91945	0,93391	0,93436	0,95379

El mayor coeficiente de determinación (R^2) en ambos materiales de empaques se dio según el orden de reacción uno, por lo cual se eligió el orden de reacción uno para el cálculo de las constantes de velocidad de reacción (Mancebo-Campos *et al.* 2008).

En la Tabla 19 se muestran los parámetros para encontrar el tiempo de vida útil del pan de molde sin gluten con quinua empacados en polipropileno y polietileno a 25 °C y 80 por ciento de humedad relativa. Se puede observar que las velocidades de reacción (k) para todos los parámetros (humedad, a_w y firmeza) fueron mayores en el polietileno con respecto al polipropileno. Labuza (2000), la velocidad de reacción depende de la temperatura, el producto y las características del empaque.

Tabla 19: Tiempo de vida útil para cada parámetro de la miga del pan de molde sin gluten con quinua

PARÁMETRO	PARÁMETROS DE LAS CINÉTICAS DE REACCIÓN							
	POLIPROPILENO				POLIETILENO			
	k (días ⁻¹) ^[1]	Q ₀ ^[2]	Q _C ^[3]	SL (días) ^[4]	k (días ⁻¹) ^[1]	Q ₀ ^[2]	Q _C ^[3]	SL (días) ^[4]
Humedad de miga (bs)	0,0007	92,90%	92,67%	3,64	0,0011	92,90%	92,67%	2,32
Actividad de agua (a_w)	0,0016	0,9279	0,9223	3,71	0,0024	0,9279	0,9223	2,5
Firmeza (kPa)	0,0127	6,182	6,4338	3,15	0,0212	6,182	6,4338	1,88

^[1] Constante de la velocidad de reacción ^[2] Valor inicial del atributo ^[3] Valor crítico del atributo ^[4] Vida útil (días).

En base a los resultados obtenidos en la presente investigación se puede decir que para los dos materiales de empaque (polipropileno y polietileno) el atributo que más rápido se deteriora es la firmeza (kPa) siendo quien determina la vida útil mediante parámetros físico-químicos del pan de molde sin gluten con quinua obteniéndose un valor de 3,15 días para el polipropileno y 1,88 días para el polietileno almacenado a 25 °C y 80 por ciento de humedad

relativa. Ahlborn *et al.* (2005), la firmeza es un factor importante en productos de panadería ya que está fuertemente correlacionado con la percepción de los consumidores sobre la frescura del pan. Sin embargo, Fontanet *et al.* (1997) indicaron que en el pan blanco tal aumento no tuvo un efecto significativo al momento de ser aceptado por un panel sensorial.

La vida útil del pan está limitada (aproximadamente a 5 días) debido a varios procesos de deterioro que incluyen principalmente: el crecimiento de hongos, la pérdida de humedad y el envejecimiento (Sourki *et al.* 2010; Dao y Dantigny 2011; Le-Bail *et al.* 2011; Pojić *et al.* 2013). Con el fin de mejorar las propiedades del pan, retrasar el envejecimiento y extender la vida útil se pueden aplicar diferentes métodos así como: el almacenamiento a baja temperatura, masa madre (Torrieri *et al.* 2014; Axel *et al.* 2015; Debonne *et al.* 2018) y adición de químicos, así como bioconservantes (Ronda *et al.* 2011; Hussain y Jamil 2012; Axel *et al.* 2017).

La extensión de la vida útil del pan también se puede lograr mediante la aplicación de material de envase apropiado (Licciardello *et al.* 2013; Licciardello *et al.* 2014; Licciardello *et al.* 2017) y técnicas de envasado en atmósferas modificadas MAP (Sourki *et al.* 2010; Fik *et al.* 2012; Khoshakhlagh *et al.* 2014; Novotni *et al.* 2017), envases activos (AP) y envases con emisores de etanol (Latou *et al.* 2010; Muizniece-Brasava *et al.* 2012; Gutiérrez *et al.* 2013; Upasen y Wattanachai 2018; Melini y Melini 2018).

El envejecimiento del pan es un fenómeno complejo que involucra múltiples factores. No obstante, sin el conocimiento del mecanismo preciso de deterioro abordar el problema del envejecimiento del pan sigue siendo un proceso de prueba y más prueba. Es difícil determinar las relaciones de causa y efecto porque la participación de un componente puede ser indirecta y aditiva, cambios en la formulación y cambios en el proceso pueden alterar más de una propiedad. Los productos de panadería ya sea que estén diseñados para tener una vida útil de dos semanas o seis meses, pueden lograr estos objetivos dependiendo en gran medida a la tecnología de empaque utilizada. Muchas empresas han tenido éxito con tecnologías que incluyen la adición de gases para controlar la atmósfera dentro del paquete, pero como todos los aspectos del producto terminado existen limitaciones. A medida que los consumidores busquen alimentos con mejor sabor, sin conservantes y baja preparación, la industria alimentaria continuará desarrollando opciones de procesamiento.

4.3 MODELAMIENTO MATEMÁTICO PARA LA MIGRACIÓN DE HUMEDAD

4.3.1 Isoterma de sorción experimental del pan de molde sin gluten con quinua

En la Figura 12 se muestra la curva experimental correspondiente a las isoterma de sorción obtenidas para el pan de molde sin gluten con quinua, esta muestra una forma sigmoideal tipo II la cual se asemeja a la isoterma de sorción desarrollada por Kulchan *et al.* (2010), para un producto horneado a base de yuca como también para un pan seco observado por Labuza (1985). Los productos exhibieron una isoterma tipo II de forma sigmoidea típica de la mayoría productos a base de biopolímeros, en la presente investigación se toma como referencia debido a no existir isotermas para productos de panadería sin gluten. Las isotermas de sorción permiten proveer el comportamiento de un alimento después de su tratamiento o almacenamiento y evaluar los riesgos de deterioro en relación con la oxidación de los lípidos, pardeamiento no enzimático, reacciones enzimáticas y desarrollo de microorganismos (Rahaman 2009).

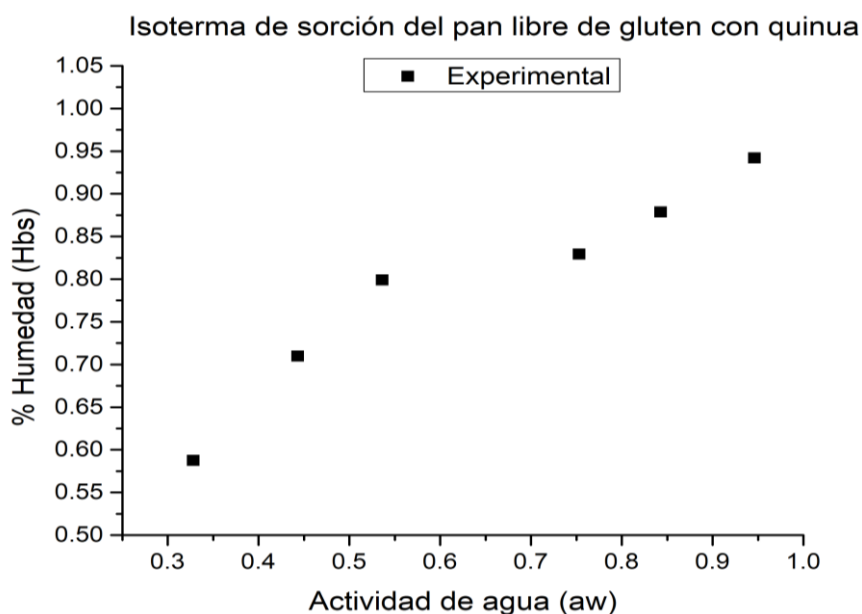


Figura 12: Isoterma de sorción experimental del pan de molde sin gluten con quinua.

Según Bell y Labuza (2000), en las isotermas tipo II se evidencia dos puntos de inflexión el primero alrededor de 0,20 – 0,40 de a_w y el segundo entre 0,65 – 0,75 de a_w . La forma de las isotermas de gluten y almidón corresponde a una isoterma tipo II, las cuales implican la formación de multicapas por adsorción física sobre los microcapilares del almidón. La forma sigmoideal tipo II ha sido reportada por otros investigadores para quinua (Rohvein *et al.*

2004), almidones de yuca (Sanni *et al.* 1997), papa (Chatakanonda *et al.* 2003; Al-Muhtaseb *et al.* 2004), maíz (Boki y Ohno 1991; Mishra y Rai 2006), trigo y arroz (Boki y Ohno 1991).

4.3.2 Ajuste de isoterma de sorción a los diferentes modelos

En la Figura 13 se presenta la gráfica comparativa que muestra los datos experimentales y los datos predichos obtenidos mediante el ajuste a los diferentes modelos matemáticos para el pan de molde sin gluten con quinua a 25 °C. Se puede observar que para valores de a_w por debajo de 0,5, los contenidos de humedad experimentales son superiores a los predichos por los modelos matemáticos, posteriormente la tendencia se invierte y los contenidos de humedad mediante los modelos matemáticos son ligeramente mayores a los observados.

Roman-Gutierrez *et al.* (2002), en actividades de agua relativamente bajas los componentes polares e hidrofílicos de los almidones, proteínas y pentosanos de alta energía de unión están saturados con moléculas de agua que forman la monocapa de adsorción. Posteriormente, se unen moléculas de agua adicionales en la monocapa lo que da como resultado una cobertura de múltiples capas y finalmente en actividades con mucha agua la acumulación de agua en espacios libres intermoleculares se produce como resultado una inflamación parcial, que a su vez puede exponer sitios de unión adicionales.

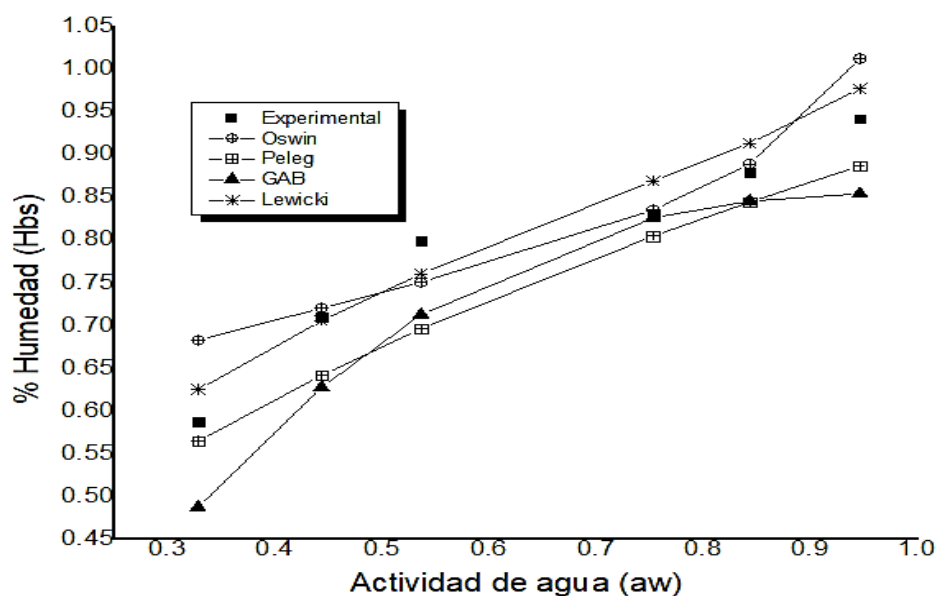


Figura 13: Isoterma de sorción experimental y ajustada con los diferentes modelos

Los datos medidos se ajustaron a los modelos mediante las Ecuaciones 9, 10, 11, 12 y 13. Los valores de las constantes de los modelos se encuentran en la Tabla 20. Además, en el Anexo 8 se muestran los valores de los parámetros: Coeficiente de determinación, coeficiente de correlación, el estadístico Durbin-Watson (DW) y del valor-P del análisis de varianza. De importancia el estadístico DW si hay alguna correlación significativa basada en el orden, puesto que el valor-P es menor que 0,05 en los modelos (GAB, Oswin, Lewicki y Peleg) hay indicación de una correlación sería con un nivel de confianza del 95,0 por ciento, excepto el modelo BET cuyo valor-P > 0,5.

Tabla 20: Constantes de los modelos de isothermas de sorción, coeficiente de determinación y porcentaje del cuadrado medio del error del pan de molde sin gluten con quinua

Modelo	Parámetros	Valores	R ²	%ERM
GAB	K	0,0065	0,92	5,69
	C	0,0003		
	Xm	0,0054		
BET	C	0,0726	0,62	74,61
	Xm	10,8054		
Lewicki	F	1,7548	0,99	5,65
	G	0,0150		
	H	0,5358		
Oswin	A	0,7389	0,94	5,51
	B	0,1099		
Peleg	a	0,4555	0,99	6,50
	b	0,4370		
	c	0,4907		
	d	0,4168		

Para predecir el comportamiento de desorción de humedad del pan de molde sin gluten con quinua, cinco modelos (GAB, BET, Lewicki, Oswin y Peleg) ampliamente utilizados en isothermas de alimentos fueron ajustados a los datos experimentales de humedad de equilibrio (Xe) en función de la actividad de agua (a_w). La totalidad de los ajustes realizados muestran un factor de regresión R² superior o igual a 0,90 y errores iguales o inferiores a 10 por ciento, excepto para el modelo BET, lo cual indican que los valores experimentales se ajustaron apropiadamente a los modelos teóricos estudiados. Gálvez *et al.* (2006), el coeficiente de determinación (R²) debe ser superior a 0,85 para conseguir un buen modelado de los datos experimentales.

El modelo que mejor ajusta a los valores experimentales fue el de Oswin con un $R^2 = 0,94$ y un error medio relativo de 5,51 por ciento. Lomauro *et al.* 1985 citado por Al-Muhtaseb *et al.* (2002) obtuvieron resultados satisfactorios con el modelo de Oswin para datos experimentales de alimentos amiláceos. El modelo GAB también muestra un buen ajuste a los datos experimentales con un error relativo medio inferior al 5,69 por ciento y un $R^2 = 0,92$. Kulchan *et al.* (2010) realizaron la simulación de vida útil de productos de panadería en base a harina de yuca usando el modelo de isoterma GAB. Adicionalmente, este modelo representa la ventaja de que abarca mayor rango de a_w y esto permite modelar la gran mayoría de puntos experimentales obtenidos.

4.3.3 Simulación de la pérdida de humedad durante el almacenamiento del pan de molde sin gluten en polipropileno y polietileno

En la Tabla 21 se muestra las condiciones para validar la migración de humedad del pan de molde sin gluten con quinua envasados en polipropileno y polietileno almacenados a 25 °C y 80 por ciento de humedad relativa. Se observó que la pérdida de humedad fue menor para el polipropileno, encontrándose valores de $1,860 \pm 0,26$ gramos de agua para el polipropileno y $2,54 \pm 0,24$ gramos de agua para el polietileno durante los 12 días de evaluación. Se realizó una prueba de comparaciones entre medias de los dos tratamientos con un $\alpha = 0,05$ y se obtuvo un valor-P= 0,004 (considerando varianzas homogéneas). Los valores obtenidos demostraron que existió variación en el contenido de humedad durante el almacenamiento y además que hay diferencia estadística significativa entre los materiales de polipropileno y polietileno. El análisis estadístico se muestra en el Anexo 9.

Tabla 21: Condiciones experimentales usadas para validar la predicción de pérdida de humedad

Parámetro	Unidad	Simbología	Polipropileno	Polietileno
Permeabilidad	g agua/ m ² día.mmHg	K	1,2433	1,4505
Espesor	µm	X	50,8	50,8
Área	m ²	A	0,1129	0,1141
Peso seco	g.m.s	W _s	201,83	206,15
Humedad inicial	g agua/g.m.s	X _i	92,920%	92,90%
Temperatura	°C	T	25	25
Humedad relativa	%	HR	80	80

Los principales cambios que se dan después del horneado son la redistribución de la humedad, la retrogradación del almidón, aumento de la firmeza y pérdida de aroma y sabor (Quail 1996). Muchos estudios han sugerido que el endurecimiento es debido a la migración de la humedad desde la miga a la corteza y más específicamente desde el almidón hinchado al gluten. Los productos con un alto contenido en humedad endurecen más rápidamente. Sin embargo, el endurecimiento no es debido simplemente a una pérdida o migración de la humedad (Kulp y Ponte 1981). Así mismo, la composición química del alimento puede afectar el transporte de permeante a través del polímero. Las proteínas, los carbohidratos, las grasas y la humedad de producto pueden ser absorbidas por el polímero afectando las propiedades mecánicas y de barrera (Hirose *et al.* 1988).

En la Tabla 22 se muestra la variación de humedad (bs) del pan de molde sin gluten con quinua durante su periodo de almacenamiento, para el valor experimental y el valor simulado. Se observó que el porcentaje del error relativo medio es 0,35 para el polipropileno y 0,27 para el polietileno, el cual indica un buen ajuste entre los datos experimentales y los simulados por encontrarse por debajo del 10 por ciento como lo indicado por Jena y Das (2012). Los resultados obtenidos de los valores experimentales y simulados se muestran en la Figura 14 y 15 para el polipropileno y el polietileno.

Tabla 22: Evaluación de la humedad (bs) durante el almacenamiento para la validación del modelo matemático

Tiempo (días)	Polipropileno (bs)		%ERM	Polietileno (bs)		%ERM
	Experimental *	Simulado **		Experimental *	Simulado **	
1	0,9290	0,9290	0,0013	0,9290	0,9290	0,0013
2	0,9287	0,9275	0,1262	0,9280	0,9273	0,0747
3	0,9282	0,9261	0,2204	0,9269	0,9257	0,1292
4	0,9272	0,9247	0,2713	0,9260	0,9240	0,2139
5	0,9264	0,9233	0,3287	0,9246	0,9225	0,2307
6	0,9248	0,9219	0,3072	0,9226	0,9209	0,1898
8	0,9233	0,9193	0,4412	0,9208	0,9178	0,3230
11	0,9219	0,9154	0,7064	0,9190	0,9134	0,6107
13	0,9198	0,9129	0,7491	0,9167	0,9107	0,6616

* % Humedad en base seca (g agua/100 g.m.s).

** Obtenido con la Ecuación 14 y la actividad de agua mediante la isoterma de sorción del modelo Oswin.

Variación de la Humedad (Hbs) experimental y simulado en Polipropileno

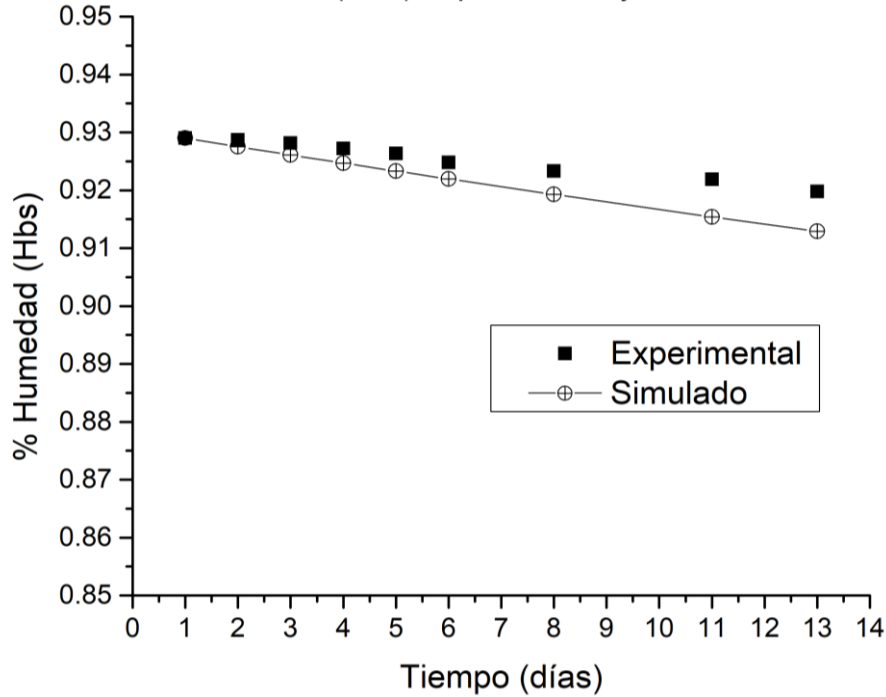


Figura 14: Pérdida de humedad (bs) del pan de molde sin gluten con quinua en almacenamiento (25 °C y 80 por ciento HR), para la validación del modelo matemático envasado en polipropileno.

Variación de la Humedad (Hbs) experimental y simulado en Polietileno

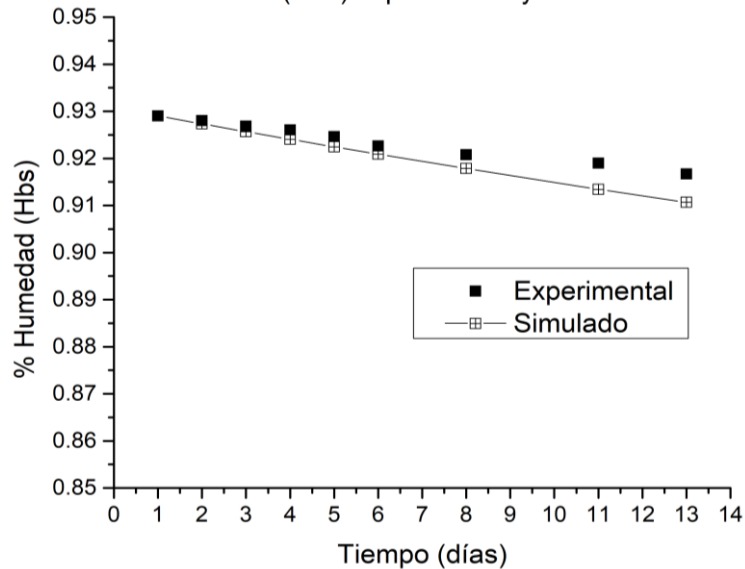


Figura 15: Pérdida de humedad (bs) del pan de molde sin gluten con quinua en almacenamiento (25 °C y 80 por ciento HR), para la validación del modelo matemático envasado en polietileno.

El pan es una “espuma” inestable, elástica y sólida, cuya parte sólida es una fase continua compuesta en parte por una red elástica de moléculas reticuladas de gluten y por moléculas

de polímeros de almidón, principalmente amilosa junto con moléculas lipídicas polares y una fase discontinua de gránulos de almidón atrapados, gelatinizados, hinchados y deformados. Ni el sistema del pan ni el proceso de endurecimiento se entiende bien a nivel molecular. Incluso una simple formulación de la masa del pan contiene varios ingredientes los cuales a su vez pueden contener diversos componentes provocando cambios durante el proceso de panificación y el envejecimiento del producto final. Así como el pan es un sistema complejo y heterogéneo, el fenómeno de migración de humedad y endurecimiento parece ser complejo también (Gray y Bemiller 2003). Leung *et al.* (1983), a medida que el almidón cambia a un estado más cristalino se inmovilizan más moléculas de agua debido a su incorporación a las estructuras cristalinas.

4.3.4 Predicción del tiempo de vida útil mediante el modelamiento de pérdida de humedad

Utilizando la Ecuación 7 y con los parámetros de la Tabla 23 se determinó la vida útil del pan de molde sin gluten con quinua, obteniéndose 50,26 días para el polipropileno y 43,53 días para el polietileno.

Tabla 23: Parámetros para determinar el tiempo de vida útil del pan de molde sin gluten con quinua mediante el modelo matemático

Parámetro	Unidades	Polipropileno	Polietileno
b	g agua/g.m.s. a_w	0,5042	0,5042
Xe	g agua/g.m.s	0,8563	0,8563
K	g agua, μm /mm Hg.día.m ²	1,2433	1,4505
x	μm	50,8	50,8
Xi	g agua/g.m.s	0,9290	0,9290
Xc	g agua/g.m.s	0,9267	0,9267
A	m ²	0,1129	0,1141
X	μm	50,8	50,8
P _{int}	mmHg	18,7793	18,7793
Ws	g.m.s	201,8399	206,1573
Tiempo	días	50,26	43,53

Piazza y Masi (1995) y Ruan *et al.* (1996), el contenido y la movilidad del agua está altamente correlacionado con el proceso de reafirmación en sistemas basados en almidón. Se ha comprobado que el agua en el pan se liga e inmoviliza con el tiempo (como se observó

mediante resonancia magnética nuclear) durante el almacenamiento (Legan 1993; Wynne-Jones y Blanshard 1986; Kim-Shim *et al.* 1991). Los cambios físico-químicos sugeridos como responsables de este cambio incluyen el aumento en el agua de la recristalización del almidón (Legan 1993; Wynne-Jones y Blanshard 1986) y el desplazamiento del agua entre las zonas amorfas, algunas de las cuales sufren envejecimiento o creación de redes lo que cambia el comportamiento de hidratación (Kim-Shim *et al.* 1991).

Además Slade y Levine (1991), si un embalaje adecuado evita la pérdida de humedad el mecanismo predominante de la pérdida de peso en la miga del pan es la recristalización de la amilopectina del estado completamente amorfo al de un producto recién calentado parcialmente cristalino, con la redistribución de la humedad a través de la migración tanto microscópica como macroscópica (Czuchajowska y Pomeranz 1989). En mención a lo expuesto el modelo de la Ecuación 7 describe el tiempo en llegar a la humedad de equilibrio, pero en el pan no toda el agua se pierde, se redistribuye internamente como se ha mencionado por lo cual hay una sobreestimación en el tiempo de vida útil. Por lo tanto, los datos de la investigación no se ajustan al modelo matemático predictivo para alimentos empacados.

4.4 VIDA ÚTIL DETERMINADA MEDIANTE ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

4.4.1 Análisis sensorial

En la Tabla 24 se muestra la aceptación promedio respecto al tiempo para muestras de panes de molde sin gluten con quinua almacenadas a 25 °C y 80 por ciento de HR en bolsas de polipropileno y polietileno. Se realizó una prueba (t) de comparaciones entre medias de los dos tratamientos con un $\alpha = 0,05$ y se obtuvo un valor-P = 0,000 (considerando varianzas homogéneas). Los valores obtenidos indican que la aceptación general disminuye conforme pasan los días de almacenamiento y que existe diferencia estadística significativa entre los materiales de polipropileno y polietileno. El análisis estadístico se muestra en el Anexo 10.

Tabla 24: Aceptación promedio del pan de molde sin gluten con quinua por día de evaluación para el polipropileno y polietileno

Tiempo (días)	Aceptación sensorial promedio del polipropileno	Aceptación sensorial promedio del polietileno
1	6,57 ± 1,55	6,12 ± 1,44
2	6,08 ± 1,41	5,93 ± 1,18
3	5,69 ± 0,97	5,31 ± 0,88
4	4,82 ± 0,86	4,50 ± 0,83
5	4,52 ± 0,89	4,22 ± 0,84

En la Tabla 24 también se puede observar que para el pan de molde sin gluten con quinua se tiene una mejor aceptabilidad general por los consumidores para el polipropileno comparado con el polietileno, se obtuvo un valor al final de la evaluación de $4,52 \pm 0,89$ para el polipropileno y $4,22 \pm 0,84$ para el polietileno. Resultados similares para aceptabilidad en panes sin gluten se han encontrado por: Zumarán e Yglesias (2013); Alvarez-Jubete *et al.* (2009); Sanz-Penella *et al.* (2009) quienes reportaron un rango de 3,10 a 6,20 para la aceptabilidad general utilizando una escala no estructuradas con puntajes de 1 a 10.

Hough y Fiszman (2005), la evaluación sensorial es el resultado de la interacción entre el alimento y el hombre, dando origen a una sensación provocada por determinados estímulos procedentes del alimento a veces modulada por las condiciones fisiológicas, psicológicas y sociológicas de la persona o grupos de personas que lo evalúan.

El uso de nuevas materias primas afecta las propiedades fisico-químicas, sensoriales, texturales y reológicas de los productos, como también las diferencias en color, sabor y el olor como resultado de las propiedades originales de las materias primas utilizadas (Shittu *et al.* 2007; Mohammed *et al.* 2012; Haros *et al.* 2013). Machado Alencar *et al.* (2015), la adición de quinua aumenta la intensidad del amargor en el pan.

En la presente investigación la evaluación sensorial se efectuó con 130 consumidores frecuentes de pan en la UNALM. Hough *et al.* (2006), en evaluación sensorial un número entre 60 y 150 consumidores es considerado adecuado para un estudio de aceptabilidad.

La pérdida de sabor y aroma se encuentra entre los cambios perjudiciales más notables del pan en el momento de la caducidad. Según se informa, la disminución en la aceptabilidad del pan durante cinco días de almacenamiento se correlaciona con una reducción en los aldehídos y un aumento en las cetonas (Lorenz y Maga 1972).

4.4.2 Determinación de los parámetros de la distribución de Weibull

En la Tabla 25 se muestra los valores de los parámetros (escala y forma) obtenidos para la distribución de Weibull tanto para el polipropileno como el polietileno. Se observa que el parámetro de forma (β) fue mayor en el polietileno con un valor de 4,54 y 4,16 para el polipropileno. Cardelli y Labuza (2000), la distribución Weibull es simétrica (forma acampanada) y para los valores comprendidos entre $2 < \beta < 5$ permiten una mejor estimación del tiempo de vida útil. Además, mientras más alto sea el valor β su tendencia al rechazo del producto por parte del consumidor es mayor.

Tabla 25: Obtención de los parámetros de Weibull

Material de empaque	Parámetro de escala	Parámetro de forma
	α	β
Polipropileno	4,06	4,16
Polietileno	3,89	4,54

El estadístico Anderson-Darling (AD) mide qué tan bien siguen los datos una distribución específica, mientras mejor se ajuste la distribución a los datos, menor será este estadístico. En la presente investigación se obtuvo un menor valor de AD con la distribución Weibull, siendo para el polietileno de 0,008 y 0,013 en el polipropileno. (Gacula y Kubala, 1975; Labuza y Schmidl, 1988; Gambaro *et al.* 2004; Salvador *et al.* 2006) mencionaron que la distribución Weibull se ajusta mejor a los datos.

4.4.3 Determinación del tiempo de vida útil mediante análisis de supervivencia

En la Tabla 26 se muestra el resumen de la vida útil (SL) en días para el pan de molde sin gluten con quinua almacenado a 25 °C y 80 por ciento de HR en bolsas de polipropileno y polietileno. Se puede observar que el total de rechazos durante toda la evaluación son mayores en el polietileno que en el polipropileno. Gacula y Kubala (1975), la velocidad de fallas es creciente durante el almacenamiento como consecuencia del deterioro normal del producto. En el Anexo 11 se muestra el rechazo de los consumidores con un “no” en función

del tiempo de almacenamiento, se observaron que los rechazos se incrementaban conforme pasaban los días de almacenamiento y fue mayor para el pan envasado en polietileno.

Tabla 26: Vida útil del pan de molde sin gluten con quinua mediante análisis de supervivencia

Parámetro	Polipropileno	Polietileno
Total de rechazos	181	246
SL ^[1] (días)	4,47	3,89
LCI ^[2] (días)	4,25	3,64
LCS ^[3] (días)	4,69	4,16

^[1] Tiempo de vida útil ^[2] Límite de control inferior ^[3] Límite de control superior

De la Tabla 26 también se puede observar el tiempo de vida útil (SL), siendo para para el polipropileno de 4,47 días y 3,89 días para el polietileno a 25 °C y 80 por ciento de HR para el pan de molde sin gluten con quinua considerando un 50 por ciento de rechazo de los consumidores. La metodología de análisis de supervivencia aprovecha la experiencia directa del consumidor. Hough (2002), la vida útil del producto es definida como el tiempo necesario para alcanzar un porcentaje fijo de rechazo del consumidor. La elección de la duración del tiempo de vida útil de un producto es una decisión hecha a criterio del investigador. Todo depende el riesgo que uno está dispuesto a correr al colocar un producto con determinado porcentaje de fallas.

Estudios de vida útil mediante el análisis de supervivencia para productos de panadería fueron reportados por: Salvador *et al.* (2006) reportaron la vida útil del pan integral de molde para un 25 por ciento y 50 por ciento de probabilidad de rechazo por parte del consumidor fue de 11 y 20 días a una temperatura de 20 °C. De la Cruz (2009), el tiempo de vida útil sensorial del pan de molde complementado con harina de quinua precocida y suero de leche fue de 11 días utilizando el método gráfico de riesgos acumulados de Weibull.

Para Meilgaard *et al.* (1991), la vida útil se puede definir como el tiempo hasta que un producto se vuelve inaceptable para los consumidores bajo una condición de almacenamiento determinada. El análisis de supervivencia se ha utilizado para estimar la vida útil de algunos productos horneados (Gámbaro *et al.* 2004 ; Giménez *et al.* 2007; Gámbaro *et al.* 2006), estimando la vida útil del producto como el tiempo necesario para alcanzar un porcentaje fijo de rechazo del consumidor.

Tradicionalmente la vida útil de los alimentos está centrada en el producto. Sin embargo, desde un punto de vista sensorial los productos alimenticios no tienen vida útil propia, más bien dependerá de la interacción del alimento con el consumidor. El análisis de supervivencia proporcionó las predicciones más adecuadas considerando el rechazo del producto por parte del consumidor, lo que podría estar relacionado con la cantidad de quejas que el producto pueda recibir cuando llega al final de su vida útil. Aunque, la determinación de la vida útil mediante la cinética de reacción o el modelamiento matemático mediante la migración de humedad se usan para estimar la vida útil de un producto, no siempre reflejan el comportamiento del consumidor al decidir si aceptar o rechazar un determinado producto para su consumo.

4.4.4 Determinación de las funciones características de Weibull

En la Figura 16 se puede observar la función de fallo o rechazo para panes sin gluten con quinua almacenados (25 °C y 80 por ciento HR) en polipropileno y polietileno, a medida que pasa el tiempo la probabilidad de rechazo se incrementa para los dos materiales de empaque utilizados, se observa también que para el polietileno esta probabilidad del rechazo es mayor y que se ralentiza para el polipropileno. A una probabilidad de fallo de 0,5 (que corresponde al 50 por ciento) se observa un tiempo de vida útil de 3,8 días para el polietileno y 4,47 días para el polipropileno, aproximadamente.

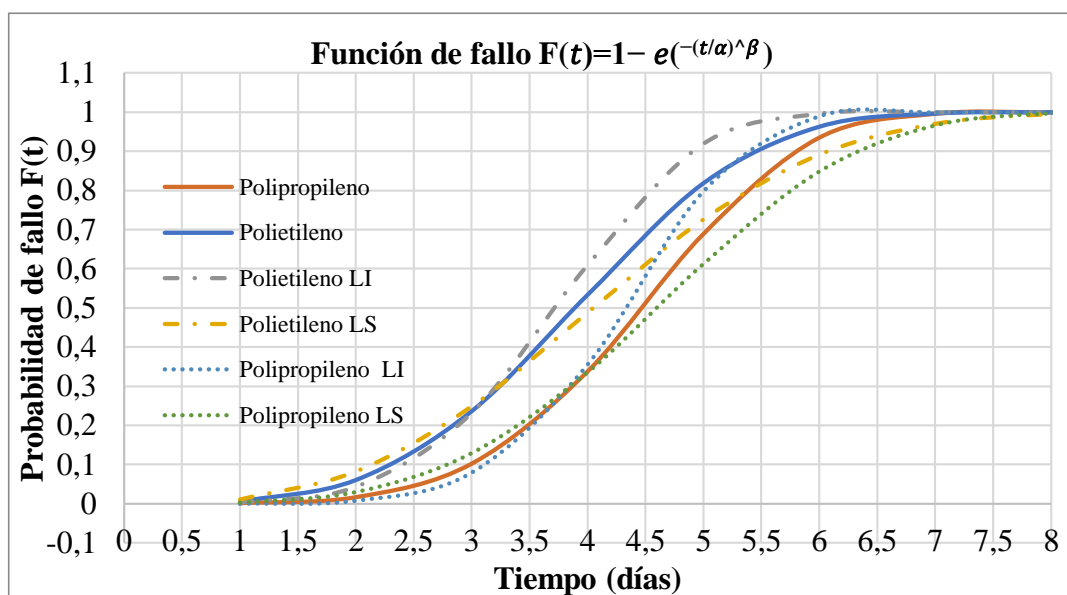


Figura 16: Función de distribución acumulativa o de fallo de panes de molde sin gluten con quinua envasados en polipropileno y polietileno.

En la Figura 17 se puede observar que a medida que pasa el tiempo la confiabilidad o supervivencia disminuye, siendo con más rapidez para el polietileno. Gacula y Kubala (1975) indican que la velocidad de fallas es creciente durante el almacenamiento como consecuencia del deterioro normal del producto. También se puede observar que el pan envasado en polietileno se rechaza más rápidamente.

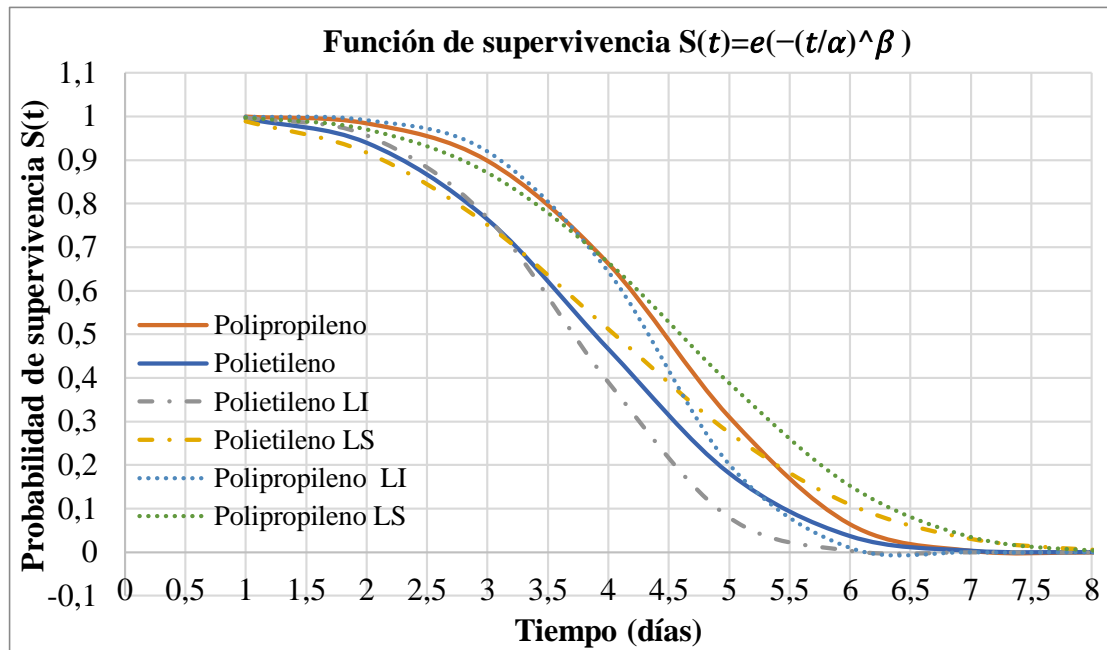


Figura 17: Función de supervivencia o de confiabilidad de panes de molde sin gluten con quinua envasados en polipropileno y polietileno.

V. CONCLUSIONES

- La vida útil del pan de molde sin gluten con quinua tuvo un valor de 3,15 días para el polipropileno y 1,88 días para el polietileno mediante la cinética de reacción almacenado a 25 °C y 80 por ciento de humedad relativa.
- La vida útil del pan de molde sin gluten con quinua fue 50,26 días para el polipropileno y 43,53 días para el polietileno utilizando el modelamiento matemático por migración de humedad almacenado a 25 °C y 80 por ciento de humedad relativa.
- La vida útil del pan de molde sin gluten con quinua fue de 4,47 días para el polipropileno y 3,89 días para el polietileno mediante la metodología del análisis supervivencia almacenado a 25 °C y 80 por ciento de humedad relativa.

VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar la vida útil del pan de molde sin gluten con quinua a diferentes humedades relativas.
- Realizar una investigación con envases activos, emisores de etanol y bolsitas absorbedoras de O₂ y evaluar cómo influyen en su vida útil.
- Formar y emplear un panel entrenado para encontrar los valores críticos, a su vez encontrar punto de corte y ver si existe diferencias al momento de encontrar la vida útil.
- Evaluar la calidad nutritiva y biológica de los panes de molde con quinua y almidón de papa.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC (Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists). 2019. 11th edition. St. Paul Minnesota, Estados Unidos de América.

Ács, E; Kovács, Z; Matuz, J. 1996. Bread from corn starch for dietetic purposes. I. Structure formation. *Cereal Research Communications* 24(4):441-449.

Ahlborn, GJ; Pike, OA; Hendrix, SB; Hess, WM; Huber, CS. 2005. Sensory, mechanical, and microscopic evaluation of staling in low-protein and gluten-free breads. *Cereal Chemistry* 82(3):328-335. DOI: <https://doi.org/10.1094/CC-82-0328>.

Al-Muhtaseb, AH; McMinn, WAM; Magee, TRA. 2002. Moisture sorption isotherm characteristics of food products: A review. *Food and Bioproducts Processing: Transactions of the Institution of Chemical Engineers, Part C* 80(2):118-128. DOI: <https://doi.org/10.1205/09603080252938753>.

Al-Muhtaseb, AH; McMinn, WAM; Magee, TRA. 2004. Water sorption isotherms of starch powders: Part 1: Mathematical description of experimental data. *Journal of Food Engineering* 61(3):297-307. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00133-X](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00133-X).

Alaunyte, I; Stojceska, V; Plunkett, A; Ainsworth, P; Derbyshire, E. 2012. Improving the quality of nutrient-rich Teff (*Eragrostis tef*) breads by combination of enzymes in straight dough and sourdough breadmaking. *Journal of Cereal Science* 55(1):22-30. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2011.09.005>.

Altamirano-Fortoul, R; Rosell, CM. 2011. Physico-chemical changes in breads from bake off technologies during storage. *LWT - Food Science and Technology* 44(3):631-636. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.04.018>.

Alvarez-Jubete, L; Auty, M; Arendt, EK; Gallagher, E. 2009. Baking properties and microstructure of pseudocereal flours in gluten-free bread formulations. *European Food Research and Technology* 230(3):437-44.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists, Estados Unidos de América), 930.22. 2016. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. International. 20 ed. Maryland, Estados Unidos de América. p. 75.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists, Estados Unidos de América), 935.39. 2016. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. International. 20 ed. Maryland, Estados Unidos de América. p. 77.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists, Estados Unidos de América), 950.36. 2016. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. International. 20 ed. Maryland, Estados Unidos de América. p. 75.

Araneda, M; Hough, G; Witting de Penna, E. 1995. Linearization , Optimization , Protection Page inserted by evaluation version Hypercortisolism and Obesity. Annals of teh New York Academy of Science 771(1):665-676.

Arendt, E; Dal Bello, F. 2008. Gluten-Free Cereal Products and Beverages. First Edition. Academic Press. 464 p.

Axel, C; Röcker, B; Brosnan, B; Zannini, E; Furey, A; Coffey, A; Arendt, EK. 2015. Application of Lactobacillus amylovorus DSM19280 in gluten-free sourdough bread to improve the microbial shelf life. Food Microbiology 47:36-44. DOI:10.1016/j.fm.2014.10.005.

Axel, C; Zannini, E; Arendt, EK. 2017. Mold spoilage of bread and its biopreservation: A review of current strategies for bread shelf life extension. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 57(16):3528-3542. DOI:10408398.2016.1147417.

Ayala, G; Ortega, L; Moron, C. 1999. Valor nutritivo y usos de la Quinoa. p. 38.

Badui, D. 2006. Química de alimentos. Cuarta edición. Editorial Pearson. Naucalpan de Juárez, México. 738 p.

Bailey, C.; von Holey, A. 1993. Bacillus spore contamination associated with commercial bread manufacture. Food Microbiology 10:287-294.

Baldera, K; Chaupis-Meza, D; Cárcamo, C; Holmes, K; García, P. 2020. Seroprevalencia poblacional de la enfermedad celíaca en zonas urbanas del Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública 37(1):63-6. DOI:10.17843/rpmesp.2020.371.4507.

Banu, C. 2000. Handbook engineer food industry. Bucharest, Romania, Technical

Publishing House Bucharest, vol.II.

Bárcenas, ME; Rosell, CM. 2007. Different approaches for increasing the shelf life of partially baked bread: Low temperatures and hydrocolloid addition. *Food Chemistry* 100(4):1594-1601. DOI:10.1016/j.foodchem.2005.12.043.

Bell, L.; Labuza, T. 2000. *Moisture Sorption: Practical Aspect of Isotherm*. 2 Edition. Minnesota, Estados Unidos de América, American Association of Cereals Chemist. 122 p.

Bergesse, AE; Boiocchi, PN; Calandri, EL; Cervilla, NS; Gianna, V; Guzmán, CA; Miranda, V; Patricia, P; Montoya, PA; Mufari, JR. 2015. *Aprovechamiento integral del grano de quinua: Aspectos Tecnológicos, Fisicoquímicos, Nutricionales y Sensoriales*. Córdoba, Argentina. Editora Grasso Florencia V.262 p.

Bessonova, NP; Mironova, NN. 2015. "Comprobación De La Norma Sanitaria Rm N° 1020-2010/Minsa En La Elaboración De Pan De Molde Comercializado En La Ciudad De Sullana" Universidad Nacional de Piura. 62 p.

Best, RL; Appleton, KM. 2013. The consumption of protein-rich foods in older adults: An exploratory focus group study. *Journal of Nutrition Education and Behavior* 45(6):751-755. DOI:10.1016/j.jneb.2013.03.008.

Blanco, CA; Ronda, F; Pérez, B; Pando, V. 2011. Improving gluten-free bread quality by enrichment with acidic food additives. *Food Chemistry* 127(3):1204-1209. DOI:10.1016/j.foodchem.2011.01.127.

Boki, K; Ohno, S. 1991. Equilibrium Isotherm Equations to Represent Sorption on Starch ABSTRACT INTRODUCTION importance in drying , in evaluating properties of dry mixes equation. *Journal of Food Science* 56(4):1106-1107.

Boyaval, P; Corre, C. 1995. Production of propionic acid. *Elsevier/INRA* 75(4-5):453-461. DOI: hal-00929451.

Breidt, F; Fleming, HP. 1998. Modeling of the competitive growth of *Listeria monocytogenes* and *Lactococcus lactisin* vegetable broth. *Journal of Applied Bacteriology* 64:3159–3165.

Brunauer, S; Emmett, P; Teller, E. 1938. Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemists Society* 60:309-310.

Calaveras, J. 1996. *Tratado de panificación y bollería*. Editorial Acribia. Madrid,

España.469p.

Calligaris, S; Manzocco, L; Kravina, G; Nicoli, MC. 2007. Shelf-life modeling of bakery products by using oxidation indices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(5):2004-2009. DOI:10.1021/jf063004h.

Calvel, R. 1983. *La Panadería Moderna*. Segunda edición. Editorial América Lee. Buenos Aires, Argentina. 410p

Cardelli, C; Labuza, TP. 2000. Application of Weibull Hazard Analysis to the Determination of the Shelf Life of Roasted and Ground Coffee. *LWT - Food Science and Technology* 34(5):273-278. DOI:10.1006/fstl.2000.0732.

Cardello, AV; Bell, R; Kramer, FM. 1996. Attitudes of consumers toward military and other institutional foods. *Food Quality and Preference* 7:7-20.

Cardoso, G; Labuza, TP. 1983. Prediction of moisture gain and loss for packaged pasta subjected to a sine wave temperature/humidity environment. *International Journal of Food Science & Technology* 18(5):587-606. DOI:10.1111/j.1365-2621.1983.tb00299.x.

Carrera, P. 1995. Sustitución de la harina de trigo por quinua (*Chenopodium quinoa*) precocida en la elaboración de pan. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú.211p

Césari, I. 2016. Metodología de Análisis Sensorial con Lógica Borrosa e Ingeniería de Modelos Borrosos para evaluar Calidad Sensorial en Alimentos. Universidad Tecnológica Nacional Regional Mendoza. 412 p.

Chatakanonda, P; Dickinson, LC; Chinachoti, P. 2003. Mobility and Distribution of Water in Cassava and Potato Starches by 1H and 2H NMR. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(25):7445-7449. DOI:10.1021/jf0341464.

Chaucheyras, F; Millet, L; Michalet, B. 1997. Effect of the addition of *Levucell Saccharomyces cerevisiae* on the rumen microflora of sheep during adaptation to high starch diets. *Reproduction Nutrition Development* :3-4.

Chauhan, GS; Zillman, RR; Eskin, NAM. 1992. Dough mixing and breadmaking properties of quinoa-wheat flour blends. *International Journal of Food Science & Technology* 27(6):701-705. DOI:10.1111/j.1365-2621.1992.tb01241.x.

Chen, H; Rubenthaler, G; Leung, H; Baranowski, J. 1988. Chemical, physical, and baking

properties of apple fiber compared with wheat and oat bran. *Cereal chemistry* 65(3):244-247.

Chiavaro, E; Vittadini, E; Musci, M; Bianchi, F; Curti, E. 2008. Shelf-life stability of artisanally and industrially produced durum wheat sourdough bread "Altamura bread". *Food Science and Technology* 41(1):58-70. DOI:10.1016/j.lwt.2007.01.018.

Chirife, J; Boquet, R; Ferro-Fontan, C; Iglesias, HA. 1983. A new model for describing the water sorption isotherm of foods. *Food Science and Technology* 48:1382-3.

Cioban, C; Alexa, E; Sumalan, R; Merce, I. 2010. Impact of Packaging on Bread Physical and Chemical Properties. 67(2):212-217. DOI:10.15835/buasvmcn-agr:5070.

Coda, R; Rizzello, CG; Gobbetti, M. 2010. Use of sourdough fermentation and pseudo-cereals and leguminous flours for the making of a functional bread enriched of γ -aminobutyric acid (GABA). *Journal of Food Microbiology* 137(2-3):236-245. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.12.010.

Collar, C; Santos, E; Rosell, CM. 2007. Assessment of the rheological profile of fibre-enriched bread doughs by response surface methodology. *Journal of Food Engineering* 78(3):820-826. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2005.11.026.

Crank, J. 1975. *The Mathematics of Diffusion*. Clarendon Press. Oxford. London, England. Second edition. 421p.

Crosbie, Graham. B; Ross, Andrew. S.2007.The Rva handbook. Cereals & Grains Assn.152p.

Curia, A; Aguerrido, M; Langohr, K; Hough, G. 2006. Survival Analysis Applied to Sensory Shelf Life of Yogurts-I: Argentine Formulations. *Journal of Food Science* 70(7):s442-s445. DOI:10.1111/j.1365-2621.2005.tb11489.x.

Czuchajowska, Z; Pomeranz, Y. 1989. DSC, water activity, and moisture contents in crumb center and near-crust zones of bread during storage. *Journal of Cereal Science* :66:305.

Daifas, DP; Smith, JP; Blanchfield, B; Austin, J. 1999. Effect of pH and CO₂ on growth and toxin production by *Clostridium botulinum* in English-style crumpets packaged under modified atmospheres. *Journal of Food Processing and Preservation* 62:1157.

Dao, T; Dantigny, P. 2011. Control of food spoilage fungi by ethanol. *Food Control* 22(3-4):360-368. DOI:10.1016/j.foodcont.2010.09.019.

Debonne, E; Van Bockstaele, F; Van Driessche, M; De Leyn, I; Eeckhout, M; Devlieghere, F. 2018. Impact of par-baking and packaging on the microbial quality of par-baked wheat and sourdough bread. *Food Control* 91:12-19. DOI:10.1016/j.foodcont.2018.03.033.

De la Cruz, W. 2009. Complementación proteica de la harina de trigo (*Triticum aestivum* L) por harina de quinua (*Chenopodium quinoa* Wild) y suero en pan de molde y tiempo de vida útil. Universidad Nacional Agraria La Molina. 211 p.

Demirkesen, I; Kelkar, S; Campanella, OH; Sumnu, G; Sahin, S; Okos, M. 2014. Characterization of structure of gluten-free breads by using X-ray microtomography. *Food Hydrocolloids* 36:37-44. DOI:10.1016/j.foodhyd.2013.09.002.

Duyvesteyn, WS; Shimoni, E; Labuza, TP. 2001. Determination of the End of Shelf-life for Milk using Weibull Hazard Method. *LWT - Food Science and Technology* 34(3):143-148. DOI:10.1006/fstl.2000.0736.

ERPE; INIAP; IICA; GTZ. 2001. Taxonomía y morfología de la planta. En: Manual de producción de quinua de calidad. Quito, Ecuador.

Espinosa Manfugás, J. 2007. Evaluación Sensorial de los Alimentos. Editorial Universitaria. La Habana, Cuba. 129 p.

Esse, R; Saari, A. 2004. Shelf-life and moisture management. Understanding and Measuring the Shelf-Life of Food :24-41. DOI:10.1016/B978-1-85573-732-7.50006-8.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura); OMS (Organización Mundial de la Salud); UNU(Organización de las Naciones unidas). 1985. Necesidades de energía y de proteínas. Informe de una reunión consultiva conjunta de expertos. Roma, Italia.

FACE (Federación de Asociaciones de Celíacos de España). 2016. El mercado mundial sin gluten sigue creciendo.

Fenema, O. 2000. Química de los Alimentos. Tercera edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 1166 p. DOI: <https://doi.org/978-84-200-1142-4>.

Fik, M; Surówka, K; Maciejaszek, I; Macura, M; Michalczyk, M. 2012. Quality and shelf life of calcium-enriched wholemeal bread stored in a modified atmosphere. *Journal of Cereal Science* 56(2):418-424. DOI:10.1016/j.jcs.2012.06.006.

Fiorentin, LD; Menon, BT; Barros, STD de; Pereira, NC; Lima, OC da M; Modenes, AN.

2010. Isotermas de sorção do resíduo agroindustrial bagaço de laranja. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 14(6):653-659. DOI:10.1590/s1415-43662010000600012.

Fleming, S; Sosulski, F. 1978. Microscopic evaluation of bread fortified with concentrated plant proteins. *Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura*. p. 55:373-382(3).

Fontanet, I; Davidou, S; Dacremont, C; Le Meste, M. 1997. Effect of water on the mechanical behaviour of extruded flat bread. *Journal of Cereal Science* 25(3):303-311. DOI:10.1006/jcrs.1996.0087.

Friedman, M. 1996. Nutritional Value of Proteins from Different Food Sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44(1)6-29. DOI: 10.1021/jf9400167.

Gacula, M; Shingh, J. 1984. *Statistical methods in food and consumers research*. Academic Press. New York, Estados Unidos de América. First edition. 505 p.

Gacula, MC; Kubala, JJ. 1975. Statistical Models for Shelf Life Failures. *Journal of Food Science* 40(2):404-409. DOI:10.1111/j.1365-2621.1975.tb02212.x.

Galić, K; Gabrić, D; Ćurić, D. 2019. Packaging and the Shelf Life of Bread. *Reference Module in Food Science* :1-8. DOI:10.1016/b978-0-08-100596-5.22655-3.

Gallagher, E; Gormley, T.; Arendt, EK. 2003. Crust and crumb characteristics of gluten free breads. *Journal of Food Engineering* 56:153-161. DOI:10.1016/s0260-8774(02)00244-3 .

Gálvez, AV; Aravena, EL; Mondaca, RL. 2006. Isotermas de adsorción en harina de maíz (*Zea mays* L.). *Ciencia e Tecnología de Alimentos* 26(4):821-827. DOI:10.1590/s0101-20612006000400017.

Gámbaro, A; Ares, G; Giménez, A. 2006. Shelf-life estimation of apple-baby food. 21:101-111. DOI:10.1111/j.1745-459X.2006.00053.x

Gámbaro, A; Fiszman, S; Giménez, A; Varela, P; Salvador, A. 2006. Consumer Acceptability Compared with Sensory and Instrumental Measures of White Pan Bread: Sensory Shelf-life Estimation by Survival Analysis. *Journal of Food Science* 69(9):S401-S405. DOI:10.1111/j.1365-2621.2004.tb09957.x.

Gámbaro, A; Giménez, A; Varela, P; Garitta, L; Hough, G. 2004. Sensory Shelf Life Estimation Of Alfajor By Survival Analysis. 19:500-509. DOI:10.1111/j.1745-459X.2004.050704.x

García, MR; Prieto, IG-S; Barrientos, Cecilia Espinoza Rebatta, FB; Morón, LG. 2009. Tablas Peruanas de Composición de Alimentos. Lima-Perú. 64 p.

Giannou, V; Tzia, C. 2007. Frozen dough bread: Quality and textural behavior during prolonged storage - Prediction of final product characteristics. *Journal of Food Engineering* 79(3):929-934. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2006.03.013.

Giménez, A; Varela, P; Salvador, A; Ares, G; Fiszman, S; Garitta, L. 2007. Shelf life estimation of brown pan bread: A consumer approach. *Food Quality and Preference* 18(2):196-204. DOI:10.1016/j.foodqual.2005.09.017.

Gray, JA; Bemiller, J. 2003. Bread Staling: Molecular Basis and Control. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2(1):1-21. DOI:10.1111/j.1541-4337.2003.tb00011.x.

Greenspan, L. 1977. Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. *JOURNAL OF RESEARCH of the National Bureau of Standards - A Physics and Chemistry* 81:1-8.

Guerra, S; Lagazio, C; Manzocco, L; Barnabà, M; Cappuccio, R. 2008. Risks and pitfalls of sensory data analysis for shelf life prediction: Data simulation applied to the case of coffee. *LWT - Food Science and Technology* 41(10):2070-2078. DOI:10.1016/j.lwt.2008.01.011.

Guillard, V; Broyart, B; Bonazzi, C; Guilbert, S; Gontard, N. 2003. Modelling of moisture transfer in a composite food: Dynamic water properties in an intermediate aw porous product in contact with high aw filling. *Chemical Engineering Research and Design* 81(9):1090-1098. DOI:10.1205/026387603770866236.

Gujral, HS; Rosell, CM. 2004. Improvement of the breadmaking quality of rice flour by glucose oxidase. *Food Research International* 37(1):75-81. DOI:10.1016/j.foodres.2003.08.001.

Gujral, N; Freeman, HJ; Thomson, ABR. 2012. Celiac disease: Prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. *World Journal of Gastroenterology* 18(42):6036-6059. DOI:10.3748/wjg.v18.i42.6036.

Gutierrez, H; De la Vara, R. 2008. Análisis y diseño de experimentos. Segunda edición. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. México. 564 p. DOI:10.3906/sag-1507-147.

Gutiérrez, L; Batlle, R; Andújar, S; Sánchez, C; Nerín, C. 2013. Evaluation of Antimicrobial

Active Packaging to Increase Shelf Life of Gluten-Free Sliced Bread. *Journal Packaging and Technology and Science*.24.485-494. DOI: 10.1002/pts.956.

Hager, AS; Wolter, A; Czerny, M; Bez, J; Zannini, E; Arendt, EK; Czerny, M. 2012. Investigation of product quality, sensory profile and ultrastructure of breads made from a range of commercial gluten-free flours compared to their wheat counterparts. *European Food Research and Technology* 235(2):333-344. DOI:10.1007/s00217-012-1763-2.

Hamada, S; Suzuki, K; Aoki, N; Suzuki, Y. 2013. Improvements in the qualities of gluten-free bread after using a protease obtained from *Aspergillus oryzae*. *Journal of Cereal Science* 57(1):91-97. DOI:10.1016/j.jcs.2012.10.008.

Han, A; Romero, HM; Nishijima, N; Ichimura, T; Xu, C; Zhang, Y. 2018. Effect of egg white solids on the rheological properties and bread making performance of gluten-free batte. *Food Hydrocolloids*:40.3-41. DOI:10.1016/j.foodhyd.2018.08.022.This.

Haros, M; Wronkowska, M; Soral-Smietana, M; Sanz-Penella, JM. 2013. Effect of whole amaranth flour on bread properties and nutritive value. *LWT - Food Science and Technology* 50(2):679-685. DOI:10.1016/j.lwt.2012.07.031.

Hayman, D; Hosney, RC; Faubion, JM. 1998. Bread crumb grain development during baking. *Jornal of Cereal Chemistry* 75(5):577-580. DOI:10.1094/CCHEM.1998.75.5.577.

He, H; Hosney, R. 1990. Changes in bread firmness and moisture during long-term storage. *Jornal of Cereal chemistry*. 67:603–605.

Hegarty, V. 1995. *Nutrition Food and the Enviroment*. Eagan Pres. St. Paul, Minnesota, Estados Unidos de América. 521p.

Hirose, K; Harte, BR; Giacin, JR; Miltz, J; Stine, C. 1988. Sorption of d-Limonene by Sealant Films and Effect on Mechanical Properties. 28-41. DOI:10.1021/bk-1988-0365.ch003.

Hobbs, DA; Ashouri, A; George, TW; Lovegrove, JA; Methven, L. 2014. The consumer acceptance of novel vegetable-enriched bread products as a potential vehicle to increase vegetable consumption. *Food Research International*. 58:15-22. DOI:10.1016/j.foodres.2014.01.038.

Houben, A; Höchstötter, A; Becker, T. 2012. Possibilities to increase the quality in gluten-free bread production: An overview. *European Food Research and Technology* 235(2):195-

208. DOI:10.1007/s00217-012-1720-0.

Hough, G. 2010. Sensory Shelf Life Estimation of Food Products. CRC Press. New York, Estados Unidos de América. 255 p.

Hough, G; Fiszman, S. 2005. Estimación de la vida útil sensorial de los alimentos. Primera edición. Martín impresores. S.L. Madrid, España. 114 p.

Hough, G; Langohr, K; Gómez, G; Curia, A. 2003. Survival analysis applied to sensory shelf life of foods. *Journal of Food Science* 68(1):359-362. DOI:10.1111/j.1365-2621.2003.tb14165.x.

Hough, G; Luz Calle, M; Serrat, C; Curia, A. 2007. Number of consumers necessary for shelf life estimations based on survival analysis statistics. *Food Quality and Preference* 18(5):771-775. DOI:10.1016/j.foodqual.2007.01.003.

Hough, G; Wakeling, I; Mucci, A; Chambers IV, E; Gallardo, IM; Alves, LR. 2006. Number of consumers necessary for sensory acceptability tests. *Food Quality and Preference* 17(6):522-526. DOI:10.1016/j.foodqual.2005.07.002.

Hussain, S; Jamil, K. 2012. Studies on the shelf life enhancement of traditional leavened bread. 45(2):81-84.

ICMSF(The International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 2000. Análisis microbiológico de los alimentos. Vol I. Editorial Acribia. p. 166-167.

IIAI (Revista Internacional de tecnologías y entornos de aprendizaje). 1977. La quinua como sucedánea y fortificación en la harina de trigo en Panificación, Fideos y Galletería. Lima-Perú.

ISO(International Organization for Standardization, Suiza). 2007. Organization For Standardization: Sensory analysis – General Guidance for the Design of Test Rooms, Ginebra, Suiza.

Jackel, S. 1980. Natural breads may cause microbiological problems. *Bakery Production and Marketing*. 15-138.

Jena, S; Das, H. 2012. Shelf life prediction of aluminum foil laminated polyethylene packed vacuum dried coconut milk powder. *Journal of Food Engineering* 108(1):135-142. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2011.06.036.

- Karaoglu, MM; Kotancilar, HG; Gurses, M. 2005. Microbiological characteristics of part-baked white pan bread during storage. *International Journal of Food Properties* 8(2):355-365. DOI:10.1081/JFP-200060239.
- Karim, AA; Norziah, MH; Seow, CC. 2000. Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry* 71(1):9-36. DOI:10.1016/S0308-8146(00)00130-8.
- Katz, J. 1928. Gelatinization and retrogradation of starch in relation to the problem of bread staling. In "A Comprehensive survey of Starch Chemistry". R. P. Walton. New York, Estados Unidos de América. 100-117p.
- Kemp, SE; Hollowood, T; Hort, J. 2009. *Sensory Evaluation: A practical handbook*. John Wiley & Sons Ltd. 360 p. DOI:10.1002/9781118688076.
- Kent, D; Amos, A. 1986. *Química moderna de los cereales*. Sexta edición. Editorial Aguilar. Madrid, España.
- Khoshakhlagh, K; Hamdami, N; Shahedi, M; Le-Bail, A. 2014. Quality and microbial characteristics of part-baked Sangak bread packaged in modified atmosphere during storage. *Journal of Cereal Science* 60(1):42-47. DOI:10.1016/j.jcs.2014.01.014.
- Kim-Shim, MS; Mari, F; Rao, PA; Stengle, TR; Chinahoti, P. 1991. O nuclear magnetic resonance studies of water mobility during bread staling. *Journal of chemistry* (39):1915.
- Kong, F; Singh, RP. 2016. *Chemical deterioration and physical instability of food and beverages*. Cambridge, Reino Unido, Woodhead Publishing. p. 43-76.
- Koros, WJ; Burgess, SK; Chen, Z. 2015. Polymer Transport Properties. In "Encyclopedia of Polymer Science and Technology". Wiley & Sons, Inc. 1-96p. DOI:10.1002/0471440264.pst376.pub2.
- Koutsoumanis, KP. 2001. Predictive modeling of the shelf life of fish under nonisothermal conditions. *Journal of Applied Bacteriology* 67:1821–1829.
- Koziol, MJ. 1992. Composición química y evaluación nutricional de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd. *Journal of Food Composition and Analysis* 5:35-68. DOI:10.1016/0889-1575(92)90006-6.
- Kulchan, R; Boonsupthip, W; Suppakul, P. 2010. Shelf life prediction of packaged cassava-flour-based baked product by using empirical models and activation energy for water vapor permeability of polyolefin film. *Journal of Food Engineering* 100(3):461-467.

DOI:10.1016/j.jfoodeng.2010.04.031.

Kulp, K; Ponte, JG. 1981. Staling of white pan bread: Fundamental causes. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 15(1):1-48. DOI:10.1080/10408398109527311.

Labuza, T.; Risbo, D. 1982. Theory and application of Arrhenius kinetics to the prediction of nutrients losses in food. In *Foods "Degradation, Keeping, Quality, Temperature, Quality Controls, Analysis, Models"*. *Journal of Food Technology*. 36, 66-74

Labuza, T. 1984. Application of chemical kinetics to deterioration of foods. *Journal of chemistry* (61):348–58.

Labuza, T. 1985. Water binding of humectants. *In "Sinamotos, D; Multon, J.L; Properties of Water in Foods"*. p. 421-445. DOI:10.1007/978-94-009-5103-7_26.

Labuza, T.P. and Schmidl, M.K. 1985. Accelerated shelf-life testing of foods. *Food Technology*. 39(9):57–62, 64, 134.

Labuza, T.P. and Schmidl, M.K. 1988. Use of sensory data in the shelf life testing of foods: principles and graphical methods for evaluation. *Cereal Foods World* 33:193–206.

Labuza, TP; Hyman, CR. 1998. Moisture migration and control in multi/domain foods. *Trends in Food Science & Technology* 9:47-55. DOI: 10.1016/S0924-2244(98)00005-3.

Labuza, TP; Szybist, LM. 1999. Current practices and regulations regarding open dating of food products. *The Retail Food Industry Center, U* :99–01.

Labuza, T. 2000. *Shelf Life Testing: Procedures and Prediction Methods for Frozen Foods*. St. Paul, Minnesota, Estados Unidos de América 47p.

Lamacchia, C; Chillo, S; Lamparelli, S; Suriano, N; La Notte, E; Del Nobile, MA. 2010. Amaranth, quinoa and oat doughs: Mechanical and rheological behaviour, polymeric protein size distribution and extractability. *Journal of Food Engineering* 96(1):97-106. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2009.07.001.

Lamiani, P; Piergiovanni, L; Limbo, S. 2010. Innovative approaches and instruments in modelling and monitoring the shelf life of packaged perishable foods. *Università degli studi di Milano*. 125 p.

Lang, K; Mccune, T. 1981. Proximity Equilibration Cell for Rapid Determination of Sorption Isotherms. 46:936-938.

Lanzocco, L; Calligaris, S; Nicolo, MC. 2010. Methods for food shelf life determination and prediction. In Decker, EA; Elias, RJ; McClements, DJ. Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications. Understanding mechanisms of oxidation and antioxidant activity. First edition. Cambridge, Reino Unido, Woodhead Publishing. p. 196-222.

Latou, E; Mexis, SF; Badeka, A V.; Kontominas, MG. 2010. Shelf life extension of sliced wheat bread using either an ethanol emitter or an ethanol emitter combined with an oxygen absorber as alternatives to chemical preservatives. *Journal of Cereal Science* 52(3):457-465. DOI:10.1016/j.jcs.2010.07.011.

Lawless, HT; Heymann, H. 2010. Sensory evaluation of food: principles and practices. Second edition. Springer. New York, Estados Unidos de América. 587 p.

Le-Bail, A; Boumali, K; Jury, V; Ben-Aissa, F; Zuniga, R. 2009. Impact of the baking kinetics on staling rate and mechanical properties of bread crumb and degassed bread crumb. *Journal of Cereal Science* 50(2):235-240. DOI:10.1016/j.jcs.2009.05.008.

Le-Bail, A; Leray, G; Perronnet, A; Roelens, G. 2011. Impact of the chilling conditions on the kinetics of staling of bread. *Journal of Cereal Science* 54(1):13-19. DOI:10.1016/j.jcs.2010.10.007.

Legan, JD. 1993. Mould spoilage of bread: the problem and some solutions. *International Biodeterioration and Biodegradation* 32(1-3):33-53. DOI:10.1016/0964-8305(93)90038-4.

Legan, JD; Voysey, PA. 1991. Yeast spoilage of bakery products and ingredients. *Journal of Applied Bacteriology* 70(5):361-371. DOI:10.1111/j.1365-2672.1991.tb02950.x.

Leung, HK; Magnuson, JA; Bruinsma, BL. 1983. Water binding of wheat flour doughs and breads as studied by deuterium relaxation. (48):95.

Licciardello, F; Cipri, L; Muratore, G. 2014. Influence of packaging on the quality maintenance of industrial bread by comparative shelf life testing. *Food Packaging and Shelf Life* 1(1):19-24. DOI:10.1016/j.fpsl.2013.10.001.

Licciardello, F; Giannone, V; Del Nobile, MA; Muratore, G; Summo, C; Giarnetti, M; Caponio, F; Paradiso, VM; Pasqualone, A. 2017. Shelf life assessment of industrial durum wheat bread as a function of packaging system. *Food Chemistry* 224:181-190. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.12.080.

Licciardello, F; Rizzo, V; Grillo, O; Venora, G; Muratore, G. 2013. Bread-making

performances of durum wheat semolina, as affected by ageing. *Journal of Cereal Science* 57(3):372-376. DOI:10.1016/j.jcs.2013.01.002.

Lin, CD; Chen, TC. 1995. Relative antifungal efficacies of phosphoric acid and other compounds on fungi isolated from poultry feed. *Animal Feed Science and Technology* 54(1-4):217-226. DOI:10.1016/0377-8401(94)00760-7.

Lin, W; Lineback, OR. 1990. Changes in Carbohydrate Fractions in Enzyme-Supplemented Bread and the Potential Relationship to Staling. *Starch - Stärke* 42(10):385-394. DOI:10.1002/star.19900421005.

Lindeboom, N; Chang, PR; Falk, KC; Tyler, RT. 2005. Characteristics of starch from eight quinoa lines. *Cereal Chemistry* 82(2):216-222. DOI:10.1094/CC-82-0216.

Lopez E.P; Goldner M.C. 2015. Influence of storage time for the acceptability of bread formulated with lupine protein isolate and added brea gum. *LWT-Food Science and Technology* 64: 1171– 8.

Lorenz, K; Coulter, L. 1991. Quinoa flour in baked products. *Plant Foods for Human Nutrition* volume 41:213-221.

Lorenz, K; Maga, J. 1972. Staling of white bread: changes in carbonyl composition and GLC headspace profiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (20):211.

Machado Alencar, NM; Steel, CJ; Alvim, ID; de Moraes, EC; Andre Bolini, HM. 2015. Addition of quinoa and amaranth flour in gluten-free breads: Temporal profile and instrumental analysis. *LWT - Food Science and Technology* 62(2):1011-1018. DOI:10.1016/j.lwt.2015.02.029.

Magan, N; Arroyo, M; Aldred, D. 2012. Mould prevention in bread. In "Bread Making: Improving Quality" editado por Stanley P Cauvain. CRC. Cambridge, England.500-514 p. DOI:10.1533/9781855737129.2.500.

Man, CMD; Jones, AA.2000. Shelf life evaluation of foods. Segunda edición. Editorial Springer. 272 p.

Man, D. 2004. La Caducidad de los alimentos. Segunda edición. Editorial Acribia. España. 148 p.

Mancebo-Campos, V; Fregapane, G; Desamparados Salvador, M. 2008. Kinetic study for the development of an accelerated oxidative stability test to estimate virgin olive oil potential

- shelf life. *European Journal of Lipid Science and Technology* 110(10):969-976.
- Manzocco, L. 2016. The acceptability limit in food shelf life studies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56(10):1640-1646. DOI:10.1080/10408398.2013.794126.
- Masure, HG; Wouters, AGB; Fierens, E; Delcour, JA. 2019. Impact of egg white and soy proteins on structure formation and crumb firming in gluten-free breads. *Food Hydrocolloids* 95(May):406-417. DOI:10.1016/j.foodhyd.2019.04.062.
- Matos, ME; Rosell, CM. 2013. Quality Indicators of Rice-Based Gluten-Free Bread-Like Products: Relationships Between Dough Rheology and Quality Characteristics. *Food and Bioprocess Technology* 6(9):2331-2341. DOI:10.1007/s11947-012-0903-9.
- Matz, S. 1989. *Bakery technology: packaging, nutrition, product development*. Pan-Tech Intl. Texas, Estados Unidos de América. 400 p.
- McKeen, L. 2017. *Permeability Properties of Plastics and Elastomers*. Four edition. 374 p.
- Meilgaard, M; Civille, G V; Carr, B. 2006. *Sensory Evaluation Techniques*. Four edition. CRC Press. 416 p.
- Melini, V; Melini, F. 2018. Strategies to extend bread and GF bread shelf-life: From Sourdough to antimicrobial active packaging and nanotechnology. *Fermentation* 4(1):5-10. DOI:10.3390/fermentation4010009.
- Miranda, M; Vega, G; López, J; Narro, R; Martínez, E. 2014. Actividad antimicrobiana y antioxidante de semillas de quínoa (*Chenopodium quinoa* Willd) cultivadas en tres zonas geográficas de Chile. 360-366.
- Mishra, S; Rai, T. 2006. Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches. *Food Hydrocolloids* 20(5):557-566. DOI:10.1016/j.foodhyd.2005.01.001.
- Mohammadi, M; Azizi, MH; Neyestani, TR; Hosseini, H; Mortazavian, AM. 2015. Development of gluten-free bread using guar gum and transglutaminase. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 21:1398-1402. DOI:10.1016/j.jiec.2014.06.013.
- Mohammed, I; Ahmed, AR; Senge, B. 2012. Dough rheology and bread quality of wheat-chickpea flour blends. *Industrial Crops and Products* 36(1):196-202. DOI:10.1016/j.indcrop.2011.09.006.
- Moore, MM; Dal Bello, F; Arendt, EK. 2008. Sourdough fermented by *Lactobacillus*

plantarum FST 1.7 improves the quality and shelf life of gluten-free bread. *European Food Research and Technology* 226(6):1309-1316. DOI:10.1007/s00217-007-0659-z.

Morales, R. 1994. Desarrollo de un pan dulce portador de calorías proteínas, vitamina A, hierro y otros micro nutrientes. Universidad del Valle-Guatemala. .

Moroni, A. V; Dal Bello, F; Arendt, EK. 2009. Sourdough in gluten-free bread-making: An ancient technology to solve a novel issue. *Food Microbiology* 26(7):676-684. DOI:10.1016/j.fm.2009.07.001.

Muizniece-Brasava, S; Dukalska, L; Murniece, I; Dabina-Bicka, I; Kozlinskis, E; Sarvi, S; Santars, R; Silvjane, A. 2012. Active Packaging Influence on Shelf Life Extension of Sliced Wheat Bread. *International Journal of Nutrition and Food Engineering* 6(7):480-486.

Muñoz, AM; Civille, V.; Carr, B. 1992. Sensory evaluation in quality control. Van Nostrand Reinold, Estados Unidos de América.

Naqash, F; Gani, A; Gani, A; Masoodi, FA. 2017. Gluten-free baking: Combating the challenges - A review. *Trends in Food Science and Technology* 66:98-107. DOI:10.1016/j.tifs.2017.06.004.

Newbold, MN. 1976. Crumb softeners and dough conditioners. *Baked Goods Freshness*. 50(4):37.

Nicoli, MC. 2012. An introduction to food shelf life: Definitions, basic concepts, and regulatory aspects. *Shelf Life Assessment of Food* :1-15. DOI:10.1201/b11871.

Nielsen, P V.; Rios, R. 2000. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *International Journal of Food Microbiology* 60(2-3):219-229. DOI:10.1016/S0168-1605(00)00343-3.

Noshirvani, N; Ghanbarzadeh, B; Rezaei Mokarram, R; Hashemi, M. 2017. Novel active packaging based on carboxymethyl cellulose-chitosan-ZnO NPs nanocomposite for increasing the shelf life of bread. *Food Packaging and Shelf Life* 11:106-114. DOI:10.1016/j.fpsl.2017.01.010.

Novotni, D; Špoljaric, IV; Drakula, S; Čukelj, N; Voucko, B; Šcetar, M; Galic, K; Ćuric, D. 2017. Influence of barley sourdough and vacuum cooling on shelf life quality of partially baked bread. *Food Technology and Biotechnology* 55(4):464-474.

DOI:10.17113/ftb.55.04.17.5344.

NTP(Norma Técnica Peruana), 205.003. 2011. Determinación de Fibra Cruda (g/100 g de muestra original). Lima, Perú.

NTP(Norma Técnica Peruana), 206.004. 2016. Panadería, pastelería y galletería. Pan de molde. Requisito. Lima, Perú.

NTP(Norma Técnica Peruana), 206.011. 2018. Determinación de Humedad (g/100 g de muestra original). Lima, Perú.

Pacheco Alfaro, AR. 2016. Elaboración De Panes Sin Gluten Utilizando Harina. Universidad Nacional Agraria la Molina. 112 p.

Paciulli, M; Rinaldi, M; Cirlini, M; Scazzina, F; Chiavaro, E. 2016. Chestnut flour addition in commercial gluten-free bread: A shelf-life study. LWT - Food Science and Technology 70:88-95. DOI:10.1016/j.lwt.2016.02.034.

Pagani, MA; Lucisano, M; Mariotti, M; Limbo, S. 2006. Influence of packaging material on bread characteristics during ageing. Packaging Technology and Science 19(5):295-302. DOI:10.1002/pts.733.

Park, SH; Morita, N. 2005. Dough and breadmaking properties of wheat flour substituted by 10% with germinated quinoa flour. Food Science and Technology International 11(6):471-476. DOI:10.1177/1082013205060766.

Pereira, PCA; González, OAR; Hernández, MIA. 2014. Semillas de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willdenow): composición química y procesamiento . Aspectos relacionados con otras áreas. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos 5(2):166-218.

Pérez-Alonso, C; Beristain, CI; Lobato-Calleros, C; Rodríguez-Huezo, ME; Vernon-Carter, EJ. 2006. Thermodynamic analysis of the sorption isotherms of pure and blended carbohydrate polymers. Journal of Food Engineering 77(4):753-760. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2005.08.002.

Piazza, L; Masi, P. 1995. Moisture redistribution throughout the bread loaf during staling and its effect on mechanical properties. Cereal Chemistry 72:320-325.

Pojić, M; Rakita, M; Torbica, A; Dapčević, T.; Dokić, L.; Hadnadev, M. 2013. Changes in quality parameters of bread supplemented with OSA starch during storage. Food and Feed Research 40(2):101-108.

- Pongjaruvat, W; Methacanon, P; Seetapan, N; Fuongfuchat, A; Gamonpilas, C. 2014. Influence of pregelatinised tapioca starch and transglutaminase on dough rheology and quality of gluten-free jasmine rice breads. *Food Hydrocolloids* 36:143-150. DOI:10.1016/j.foodhyd.2013.09.004.
- Preedy.R, V; Watson.R, R; Patel. B, V. 2011. *Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention*. San Diego, Estados Unidos de América. p. 543.
- Pua, CK; Sheikh, N; Tan, CP; Mirhosseini, H; Abdul Rahman, R; Rusul, G. 2008. Storage stability of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) powder packaged in aluminium laminated polyethylene and metallized co-extruded biaxially oriented polypropylene during storage. *Journal of Food Engineering* 89(4):419-428. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2008.05.023.
- Quaglia, G. 1991. *Ciencia y tecnología de la Panificación*. Editorial Acribia. Zaragoza, España. p. 239-258.
- Quail, KJ. 1996. *Arabic Bread Production*. St. Paul Minnesota, Estados Unidos de América. p. 73-97.
- Rahaman, S. 2009. *Food Properties Handbook*. Second edition. CRC Press. 856p.
- Reid, D. 2007. Water and ice. In "Damoradan, S; Parkin, K. L; Fenema's Food Chemistry" S; Fifth edition. CRC Press. p. 17–82. DOI:10.1201/9781315372914
- Repo-Carrasco, R; Cortez, G; Montes, R; Quispe, illapando. L; Ramos, I. 2007. *Cultivos Andinos*. Editorial Iberoamericana. Córdoba, Argentina. p. 245-294.
- Ribotta, PD; Pérez, GT; Añón, MC; León, AE. 2010. Optimization of additive combination for improved soy-wheat bread quality. *Food and Bioprocess Technology* 3(3):395-405. DOI:10.1007/s11947-008-0080-z.
- Risbo, J. 2003. The dynamics of moisture migration in packaged multi-component food systems I: Shelf life predictions for a cereal-raisin system. *Journal of Food Engineering* 58(3):239-246. DOI:10.1016/S0260-8774(02)00373-4.
- Rizzello, CG; Lorusso, A; Montemurro, M; Gobbetti, M. 2016. Use of sourdough made with quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour and autochthonous selected lactic acid bacteria for enhancing the nutritional, textural and sensory features of white bread. *Food Microbiology* 56:1-13. DOI:10.1016/j.fm.2015.11.018.
- Rjson, HAR; Gaynor, PM. 2018. Generally Recognized as Safe (GRAS) Notice for the Use

- of Calcium Propionate as an Antibrowning Agent in Processed Fruits and Vegetables. (786).
- Robertson, G. 2013. Food Packaging. Principles and Practice. Third edition. CRC Press. 696 p. DOI: <https://doi.org/10.1177/0340035206070163>.
- Rohvein, C; Santalla, E; Gely, MC. 2004. Estimation of sorption isotherm and the heat of sorption of quinoa (*Chenopodium Quinoa* Willd.) seeds. Food Science and Technology International 10(6):409-413. DOI:10.1177/1082013204049513.
- Roman-Gutierrez, AD; Guilbert, S; Cuq, B. 2002. Distribution of water between wheat flour components: A dynamic water vapour adsorption study. Journal of Cereal Science 36(3):347-355. DOI:10.1006/jcrs.2002.0470.
- Romo, S; Rosero, A; Forero, C; Céron, E. 2006. Potencial nutricional de harinas de quinua (*Chenopodium Quinoa* W) variedad piartal en los andes colombianos primera parte. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA 4(1):112-125.
- Ronda, F; Caballero, PA; Quilez, J; Roos, YH. 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(1):97-103. DOI:10.1016/j.jcs.2010.10.003.
- Rosenkvist, H; Hansen, Å. 1995. Contamination profiles and characterisation of Bacillus species in wheat bread and raw materials for bread production. International Journal of Food Microbiology 26(3):353-363. DOI:10.1016/0168-1605(94)00147-X.
- Ruan, R; Almaer, S; Huang, V; Perkins, P; Chen, P; Fulcher, R. 1996. Relationship between firming and water mobility in starch-based food systems during storage. Cereal Chemistry 73(3):328-332.
- Sabanis, D; Lebesi, D; Tzia, C. 2009. Effect of dietary fibre enrichment on selected properties of gluten-free bread. LWT-Food Science and Technology 42(8):1380-1389. DOI:10.1016/j.lwt.2009.03.010.
- Saguy, I. 1983. Computer Aided Techniques in food technology. New York, Estados Unidos de América.
- Saguy, I; Karel, M. 1980. Modelling of quality deterioration during food processing and storage. Food Technology 34(2):78-85.
- Salvador, A; Varela, P; Fiszman, SM; Gómez, G. 2006. Estimating the shelf life of brown pan bread, suitability of survival analysis methodology. Journal of Food Science 71(4).

DOI:10.1111/j.1750-3841.2006.00002.x.

Samaniego-Esguerra, CM; Boag, IF; Robertson, GL. 1991. Comparison of regression methods for fitting the GAB model to the moisture isotherms of some dried fruit and vegetables. *Journal of Food Engineering* 13(2):115-133. DOI:10.1016/0260-8774(91)90014-J.

Sanguinetti, AM; Del Caro, A; Scanu, A; Fadda, C; Milella, G; Catzeddu, P; Piga, A. 2016. Extending the shelf life of gluten-free fresh filled pasta by modified atmosphere packaging. *LWT-Food Science and Technology* 71:96-101. DOI:10.1016/j.lwt.2016.03.010.

Sanni, LO; Atere, C; Kuye, A. 1997. Moisture Sorption Isotherms of Fufu and Tapioca at Different Temperatures. *Journal of Food Engineering* 34(2):203-212. DOI:10.1016/S0260-8774(97)00072-1.

Sanz-Penella, JM; Tamayo-Ramos, JA; Sanz, Y; Haros, M. 2009. Phytate reduction in bran-enriched bread by phytase-producing bifidobacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(21):10239-10244. DOI:10.1021/jf9023678.

Sayed, HS; Sakr, AM; Hassan, NMM. 2016. Effect of Pseudo Cereal Flours on Technological , Chemical and Sensory Properties of Pan Bread. *Journal of Food Science* 11(1):10-17. DOI:10.5829/idosi.wjdfs.2016.11.1.12867.

Schiraldi, A; Fessas, D. 2000. Mechanism of staling. An Overview. *In "Bread Staling"*. CRC.Press. p. 2-10. DOI:10.1201/9781351070348

Schoenlechner, R; Siebenhandl, S; Berghofer, E. 2008. Pseudocereals. *In "Arendt, E.K; Bello, F.D. editors: Gluten-free cereal products and beverages"*. Academic Press. San Diego, Estados Unidos de Américas. p. 149-190.

Shah, AR; Shah, RK; Madamwar, D. 2006. Improvement of the quality of whole wheat bread by supplementation of xylanase from *Aspergillus foetidus*. *Bioresource Technology* 97(16):2047-2053. DOI:10.1016/j.biortech.2005.10.006.

Sharma, SK; Mulvaney, SJ; Rizui, SS. 2003. *Ingeniería de alimentos: Operaciones unitarias y prácticas de laboratorio*. Editorial Limusa. México.358p.

Sheng, X; Ma, Z; Li, X; Liu, L; Hu, X. 2016. Effect of water migration on the thermal-vacuum packaged steamed buns under room temperature storage. *Journal of Cereal Science* 72:117-123. DOI:10.1016/j.jcs.2016.10.008.

- Shittu, TA; Raji, AO; Sanni, LO. 2007. Bread from composite cassava-wheat flour: I. Effect of baking time and temperature on some physical properties of bread loaf. *Food Research International* 40(2):280-290. DOI:10.1016/j.foodres.2006.10.012.
- Sinani, V; Sana, M; Seferi, E; Sinani, A. 2014. The Impact of Natural Water Quality on Baking Products in Albania. *Journal of Water Resource and Protection* 06(18):1659-1665. DOI:10.4236/jwarp.2014.618149.
- Singh, H; MacRitchie, F. 2001. Application of polymer science to properties of gluten. *Journal of Cereal Science* 33(3):231-243. DOI:10.1006/jcrs.2000.0360.
- Singh, TK; Cadwallader, KR. 2002. The shelf life of foods: An overview. *Food Science and Human Nutrition*. Washington D. C, Estados Unidos de América. 2-21.
- Slade, L; Levine, H. 1991. Beyond water activity: Recent advances based on an alternative approach to assessment of food quality and safety. *Journal of Food Science* (30):115.
- Smith, JP. 1993. Bakery products. In " Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Foods". Editorial Springer. p. 305. DOI: 10.1007/978-1-4615-2137-2_7
- Smith, JP; Daifas, DP; El-Khoury, W; Koukoutsis, J; El-Khoury, A. 2004. Shelf Life and Safety Concerns of Bakery Products - A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44(1):19-55. DOI:10.1080/10408690490263774.
- Soledispa, K; Morán, K. (2013). “Efecto De La Goma Xanthan Y La Hidroxipropilmetilcelulosa En Las Características Físicas Y Reológicas Del Pan De Arroz Libre De Gluten Tipo Molde ”. Guayaquil, Ecuador.
- Sourki, AH; Yazdi, FT; Davoodi, MG; Mortazavi, SA; Karimi, M; Razavizadegan Jahromi, SH; Pourfarzad, A. 2010. Staling and quality of Iranian flat bread stored at modified atmosphere in different packaging. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 65(5):422-427.
- Stanley, N; Manthorpe, J; White, M. 2007. Depression in the profession: Social workers' experiences and perceptions. *British Journal of Social Work* 37(2):281-298. DOI:10.1093/bjsw/bcl058.
- Stannett, V. 1978. The transport of gases in synthetic polymeric membranes and historical perspective. *Journal of science* (3):97-115.
- Stefan, E-M; Voicu, G; Constantin, G-A; Ferdes, M; Muscalu, G. 2016. The Effect of Water

Hardness on Rheological Behavior of Dough. Journal of Engineering Studies and Research 21(1). DOI:10.29081/jesr.v21i1.46.

Stikic, R; Glamoclija, D; Demin, M; Vucelic-Radovic, B; Jovanovic, Z; Milojkovic-Opsenica, D; Jacobsen, SE; Milovanovic, M. 2012. Agronomical and nutritional evaluation of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) as an ingredient in bread formulations. Journal of Cereal Science 55(2):132-138. DOI:10.1016/j.jcs.2011.10.010.

Stone, H; Sidel, J. 2004. Sensory Evaluation Practices. In "Food Science and Technology" Third edition p. 408. DOI:10.1016/B978-0-12-672690-9.X5000-8.

Taoukis, S; Labuza, TP; Saguy, IS. 1997. Kinetics of Food Deterioration and Shelf-Life Prediction. p. 1-75. DOI: 10.1201/9781420049077.ch9.

Tapia, M. 1979. Quinoa y Kañiwa, Cultivos Andinos. CIID, Oficina Regional para la América Latina. Bogota, Colombia.

Thompson, JL; Manore, MM; Vaughan, L. 2008. Lípidos: nutrientes esenciales que aportan energía. Editores Pearson. Madrid, España.

Toro, GG; Ancco, T; Ramos, DJ. 2014. Determinación de la vida útil en anaquel del pan libre de gluten a base de harina de Quinoa (*Chenopodium quinoa*) envasado en polietileno y polipropileno. Ciencia & Desarrollo 18(1):68-71.

Torrieri, E; Pepe, O; Ventrino, V; Masi, P; Cavella, S. 2014. Effect of sourdough at different concentrations on quality and shelf life of bread. LWT - Food Science and Technology 56(2):508-516. DOI:10.1016/j.lwt.2013.12.005.

Tsatsaragkou, K; Protonotariou, S; Mandala, I. 2016. Structural role of fibre addition to increase knowledge of non-gluten bread. Journal of Cereal Science 67:58-67. DOI:10.1016/j.jcs.2015.10.003.

Turabi, E; Sumnu, G; Sahin, S. 2008. Rheological properties and quality of rice cakes formulated with different gums and an emulsifier blend. Food Hydrocolloids 22(2):305-312. DOI:10.1016/j.foodhyd.2006.11.016.

Turkut, GM; Cakmak, H; Kumcuoglu, S; Tavman, S. 2016. Effect of quinoa flour on gluten-free bread batter rheology and bread quality. Journal of Cereal Science 69:174-181. DOI:10.1016/j.jcs.2016.03.005.

Udomkun, P; Nagle, M; Argyropoulos, D; Mahayothee, B; Latif, S; Müller, J. 2016.

Compositional and functional dynamics of dried papaya as affected by storage time and packaging material. *Food Chemistry* 196:712-719. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.09.103.

Upasen, S; Wattanachai, P. 2018. Packaging to prolong shelf life of preservative-free white bread. *Heliyon* 4(9):e00802. DOI:10.1016/j.heliyon.2018.e00802.

Ureña, M; D'Arrigo, M; Girón, O. 1999. *Evaluación Sensorial de los Alimentos. Aplicación Didáctica*. Primera edición. Lima-Perú. 199 p.

Valentas, KJ; Rotstein, E; Singh, P. 1997. *Food Engineering practice*. First edition. Editorial CRC Press. 736 p.

Van Boekel, MAJS. 2008. Kinetic modeling of food quality: A critical review. *Food Science and Food Safety* 7(1):144-158. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2007.00036.x.

Vera, G.C. (1995). *Introducción a la microbiología*. Costa Rica. Segunda edición. 256p

Vergara, S. 2012. *Café peruano: Aroma y Sabor para Nosotros y el Mundo*. Universidad Nacional Agraria la Molina. 92p.

Vogelmann, SA; Seitter, M; Singer, U; Brandt, MJ; Hertel, C. 2009. Adaptability of lactic acid bacteria and yeasts to sourdoughs prepared from cereals, pseudocereals and cassava and use of competitive strains as starters. *International Journal of Food Microbiology* 130(3):205-212. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.01.020.

Wang, N; Hou, GG; Dubat, A. 2017. Effects of flour particle size on the quality attributes of reconstituted whole-wheat flour and Chinese southern-type steamed bread. *Food Science and Technology* 82:147-153. DOI:10.1016/j.lwt.2017.04.025.

Wang, S; Opassathavorn, A; Zhu, F. 2015. Influence of Quinoa Flour on Quality Characteristics of Cookie, Bread and Chinese Steamed Bread. *Journal of Texture Studies* 46(4):281-292. DOI:10.1111/jtxs.12128.

Ward, FM; Andon, SA. 2002. Hydrocolloids as film formers, adhesives, and gelling agents for bakery and cereal products. *Journal of Cereal Science* (47):52-55.



Witczak, M; Korus, J; Ziobro, R; Juszczak, L. 2010. The effects of maltodextrins on gluten-free dough and quality of bread. *Journal of Food Engineering* 96(2):258-265. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2009.07.022.

Wynne-Jones, S; Blanshard, JMV. 1986. Hydration of amylopectin, amylose gels and bread

- by proton magnetic resonance. *Carbohydrate Polym. Journal of Cereal Science* (6):289-306.
- Xu, S; Dong, R; Liu, Y; Wang, X; Ren, T; Ma, Z; Liu, L; Li, X; Hu, X. 2020. Effect of thermal packaging temperature on Chinese steamed bread quality during room temperature storage (en línea). *Journal of Cereal Science* 92(December 2019):102921. DOI:10.1016/j.jcs.2020.102921.
- Yuru, B; Xianlun, W. 2011. Research on water's influences on the quality of frozen dough. *Procedia Environmental Sciences* 8:313-318. DOI:10.1016/j.proenv.2011.10.050.
- Zanoni, B; Peri, C. 1993. A study of the bread-baking process. I: A phenomenological model. *Journal of Food Engineering* 19(4):389-398. DOI:10.1016/0260-8774(93)90027-H.
- Zhang, L; Huang, S; Ananingsih, VK; Zhou, W; Chen, XD. 2014. A study on *Bifidobacterium lactis* Bb12 viability in bread during baking. *Journal of Food Engineering* 122(1):33-37. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2013.08.029.
- Zobel, H; Kulp, K. 1996. *The staling mechanism*. Editores Hebeda. New York, Estados Unidos de Américas. p. 1-64.
- Zumarán, O.; Yglesias, L. 2013. Optimización de las propiedades físicas, nutritivas y sensoriales del pan elaborado con harina de espárrago, kiwicha y trigo. *Revista CIENCIA Y TECNOLOGÍA* 9(3):23-34.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Análisis proximal del pan de molde sin gluten con quinua.

	LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA <i>Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos</i>																							
INFORME DE ENSAYOS N° 006517 - 2019																								
SOLICITANTE	: GARCIA RAMÓN DIEGO FERNANDO																							
DIRECCIÓN LEGAL	: PEZ AUSTRAL 378 ATE																							
	: RUC: 001668495	: Teléfono: 910308202																						
PRODUCTO	: PAN LIBRE DE GLUTEN CON QUINUA																							
NÚMERO DE MUESTRAS	: Uno																							
IDENTIFICACIÓN/MTRA.	: S.L.																							
CANTIDAD RECIBIDA	: 399,9 g (+envase) de muestra proporcionada por el solicitante.																							
MARCA(S)	: S.M.																							
FORMA DE PRESENTACIÓN	: Envasado, la muestra ingresa en bolsa sellada																							
SOLICITUD DE SERVICIO	: S/S N°EN-004264 -2019																							
REFERENCIA	: PERSONAL																							
FECHA DE RECEPCIÓN	: 15/08/2019																							
ENSAYOS SOLICITADOS	: FÍSICO/QUÍMICO																							
PERÍODO DE CUSTODIA	: No aplica																							
RESULTADOS :																								
ENSAYOS FÍSICOS/QUÍMICOS :																								
ALCANCE : N.A.																								
<table border="1"><thead><tr><th>ENSAYOS</th><th>RESULTADO</th></tr></thead><tbody><tr><td>1.- Energía Total (Kcal / 100 g de muestra original)</td><td>237,9</td></tr><tr><td>2.- Cenizas (g / 100 g de muestra original)</td><td>1,9</td></tr><tr><td>3.- Proteína(g / 100 g de muestra original) (Factor: 6,25)</td><td>3,2</td></tr><tr><td>4.- % Kcal. proveniente de Grasa</td><td>11,7</td></tr><tr><td>5.- % Kcal. proveniente de Carbohidratos</td><td>82,9</td></tr><tr><td>6.- Carbohidratos(g / 100 g de muestra original)</td><td>49,3</td></tr><tr><td>7.- Grasas(g / 100 g de muestra original)</td><td>3,1</td></tr><tr><td>8.- % Kcal. proveniente de Proteínas</td><td>5,4</td></tr><tr><td>9.- Humedad(g / 100 g de muestra original)</td><td>42,5</td></tr><tr><td>10.- Fibra Cruda(g / 100 g de muestra original)</td><td>0,6</td></tr></tbody></table>			ENSAYOS	RESULTADO	1.- Energía Total (Kcal / 100 g de muestra original)	237,9	2.- Cenizas (g / 100 g de muestra original)	1,9	3.- Proteína(g / 100 g de muestra original) (Factor: 6,25)	3,2	4.- % Kcal. proveniente de Grasa	11,7	5.- % Kcal. proveniente de Carbohidratos	82,9	6.- Carbohidratos(g / 100 g de muestra original)	49,3	7.- Grasas(g / 100 g de muestra original)	3,1	8.- % Kcal. proveniente de Proteínas	5,4	9.- Humedad(g / 100 g de muestra original)	42,5	10.- Fibra Cruda(g / 100 g de muestra original)	0,6
ENSAYOS	RESULTADO																							
1.- Energía Total (Kcal / 100 g de muestra original)	237,9																							
2.- Cenizas (g / 100 g de muestra original)	1,9																							
3.- Proteína(g / 100 g de muestra original) (Factor: 6,25)	3,2																							
4.- % Kcal. proveniente de Grasa	11,7																							
5.- % Kcal. proveniente de Carbohidratos	82,9																							
6.- Carbohidratos(g / 100 g de muestra original)	49,3																							
7.- Grasas(g / 100 g de muestra original)	3,1																							
8.- % Kcal. proveniente de Proteínas	5,4																							
9.- Humedad(g / 100 g de muestra original)	42,5																							
10.- Fibra Cruda(g / 100 g de muestra original)	0,6																							
MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO :																								
1.- Por Cálculo MS-INN Collazos 1993																								
2.- AOAC 930.22 Cap. 32, Pág. 75, 20th Edition 2016																								
3.- AOAC 950.36 Cap. 32, Pág. 75, 20th Edition 2016																								
4.- Por Cálculo MS-INN Collazos 1993																								
5.- Por Cálculo MS-INN Collazos 1993																								
6.- Por Diferencia MS-INN Collazos 1993																								
7.- AOAC 935.39 (D) Cap. 32, Pág. 77, 20th Edition 2016																								
8.- Por Cálculo MS-INN Collazos 1993																								
9.- NTP 205.011:2018																								
10.- NTP 205.003:1980 (Revisada al 2011)																								
FECHA DE EJECUCION DE ENSAYOS: Del 16/08/2019 Al 22/08/2019.																								

ANEXO 2: Datos del análisis de estructura de la miga mediante *software* Image J

N°	Repetición 1		Repetición 2		Repetición 3	
	Área (mm ²)	Número de alveolos/cm ²	Área (mm ²)	Número de alveolos/cm ²	Área (mm ²)	Número de alveolos/cm ²
1	18,92	74,54	3,07	63,59	7,74	71,11
2	1,69	79,11	6,76	87,34	12,85	54,95
3	3,93	61,47	1,50	84,75	6,76	83,13
4	1,67	62,41	0,71	92,13	10,92	69,70
5	1,46	87,87	5,44	84,53	6,76	83,13
6	1,02	76,70	3,15	82,45	2,59	74,66
7	1,19	75,25	3,80	90,97	9,24	60,98
8	0,64	83,80	0,70	89,57	5,73	81,53
9	0,57	93,78	0,63	92,18	8,65	81,62
10	0,41	90,05	1,49	88,38	7,27	80,76
11	0,93	87,23	6,76	87,34	4,78	84,19
12	0,76	87,97	1,47	89,04	10,59	78,80
13	1,24	91,51	1,60	87,08	9,31	85,27
14	0,63	89,61	9,37	79,37	2,81	93,18
15	1,82	88,90	0,98	89,34	0,37	84,50
16	3,10	92,18	3,20	82,50	6,61	81,45
17	0,67	72,77	2,71	86,57	22,20	81,25
18	6,16	85,64	3,99	85,43	1,75	91,63
19	1,82	95,61	11,53	74,39	1,75	91,63
20	0,47	89,76	2,42	75,33	10,99	73,12
21	0,81	91,46	11,25	78,97	2,23	80,34
22	0,16	95,54	7,56	82,07	13,98	86,56
23	0,76	99,25	12,12	78,49	12,85	80,48
24	5,23	72,36	9,78	62,35	10,63	74,25
25	1,36	78,06	6,52	72,11	8,51	86,57
26	0,86	84,61	5,98	67,79	17,67	77,54
27	0,59	89,62	5,98	78,80	17,67	77,54
28	3,97	83,33	8,43	84,53	4,53	71,51
29	3,97	83,33	3,50	83,95	5,62	72,99
30	0,40	72,31	2,52	90,50	7,78	72,38
31	0,87	65,26	3,13	82,56	2,48	89,07
32	1,13	83,31	3,91	85,66	14,20	87,85

33	0,59	92,70	1,46	90,70	1,21	91,06
34	0,75	95,58	4,62	79,41	2,81	91,10
35	0,80	82,82	2,07	80,94	3,98	88,80
36	0,87	70,59	4,27	85,84	3,98	88,80
37	1,28	80,75	2,88	83,95	6,03	89,53
38	0,86	95,98	7,10	80,66	2,78	89,34
39	0,70	87,31	13,48	70,27	5,08	87,12
40	1,10	93,18	3,18	75,71	5,48	87,41
41	0,85	95,50	6,36	82,07	8,33	87,74
42	2,43	84,51	4,23	80,35	3,62	94,29
43	2,70	90,35	7,09	89,88	5,73	91,11
44	2,70	90,35	3,18	75,71	7,38	85,51
45	1,07	82,22	2,58	88,99	10,55	88,53
46	1,45	65,87	2,53	61,70	15,45	88,80
47	1,34	79,96	4,07	83,59	9,17	87,46
48	1,45	65,87	2,53	76,32	7,89	86,01
49	2,47	90,90	1,41	85,60	9,20	90,88
50	0,81	93,13	1,55	78,78	9,20	90,88
51	0,89	85,54	1,19	80,68	0,07	96,00
52	3,40	91,98	4,38	77,13	8,54	88,82
53	4,72	52,45	3,54	87,29	8,14	85,25
54	2,22	76,33	5,60	61,29	12,16	86,99
55	5,41	91,67	3,54	77,63	9,46	76,22
56	5,99	82,15	2,93	83,97	4,56	85,86
57	0,69	92,27	6,30	69,80	2,70	92,80
58	0,89	88,77	0,74	90,30	7,89	83,79
59	7,16	82,71	3,10	80,31	1,83	93,94
60	2,02	81,12	2,25	75,27	8,87	85,45
61	0,71	89,47	1,76	73,63	0,88	93,08
62	0,91	82,21	0,21	93,92	8,11	87,33
63	6,20	81,02	3,21	84,70	8,07	83,81
64	0,74	82,55	7,04	68,79	0,11	95,67
65	30,20	66,24	2,09	90,61	7,52	84,21
66	4,55	78,36	2,66	88,47	7,08	92,54
67	12,26	71,00	1,28	93,48	8,03	88,84
68	2,02	81,12	4,29	83,62	8,07	85,46

69	18,92	74,54	3,40	88,22	2,63	85,25
70	1,69	79,11	4,83	87,86	8,14	84,87
71	3,93	61,47	4,40	79,80	6,86	87,90
72	1,67	62,41	6,14	83,71	5,95	93,14
73	1,46	87,87	3,13	87,02	3,97	83,33
74	1,02	76,70	6,39	90,54	3,97	83,33
75	0,64	83,80	2,01	90,32	0,87	65,26
76	2,06	62,46	2,14	90,11	1,13	83,31
77	0,66	93,30	0,85	88,74	0,59	92,70
78	0,93	87,23	5,92	79,56	0,80	82,82
79	1,40	94,18	4,26	88,02	0,87	70,59
80	0,76	87,97	0,24	92,73	1,28	80,75
81	1,24	91,51	0,16	93,60	0,86	95,98
82	0,63	89,61	0,97	84,43	0,70	87,31
83	1,82	88,90	0,60	89,18	1,24	91,51
84	3,10	92,18	0,82	83,33	0,63	89,61
85	0,67	72,77	2,37	82,45	1,82	88,90
86	6,16	85,64	11,53	74,39	3,10	92,18
87	1,82	95,61	3,99	85,43	0,67	72,77
88	0,47	89,76	2,12	92,39	6,16	85,64
89	0,81	91,46	2,36	74,97	1,82	95,61
90	0,97	93,07	3,20	82,50	0,47	89,76
91	2,43	84,51	4,23	80,35	3,62	94,29
92	2,70	90,35	7,09	89,88	5,73	91,11
93	2,70	90,35	3,18	75,71	7,38	85,51
94	1,07	82,22	2,58	88,99	10,55	88,53
95	1,45	65,87	2,53	61,70	15,45	88,80
96	1,34	79,96	4,07	83,59	9,17	87,46
97	1,45	65,87	2,53	76,32	7,89	86,01
98	2,47	90,90	1,41	85,60	9,20	90,88
99	0,81	93,13	1,55	78,78	9,20	90,88
100	0,76	99,25	12,12	78,49	0,66	93,30

ANEXO 3: Análisis estadístico de humedad (bs) de la miga del pan de molde sin gluten con quinua envasados en polietileno y polipropileno.

Antes de realizar el análisis se comprobó el supuesto de normalidad de errores.

1. Errores siguen una distribución normal

Ho: Los errores se ajustan a una distribución normal.

Hi: Los errores no se ajustan a una distribución normal.

	Polipropileno(bs)	Polietileno(bs)
Sesgo Estandarizado	-0,707	-1,486
Curtosis Estandarizada	0,420	0,201

De particular interés son el sesgo estandarizado y la curtosis estandarizada que pueden usarse para comparar si las muestras provienen de distribuciones normales. Valores de estos estadísticos fuera del rango de -2 a +2 indican desviaciones significativas de la normalidad, lo que tendería a invalidar las pruebas que comparan las desviaciones estándar. En este caso, el sesgo estandarizado y curtosis estandarizadas se encuentran dentro del rango esperado.

2. Comparación de medias

Hipótesis nula: media 1 = media 2

Hipótesis alterna: media 1 \neq media 2

suponiendo varianzas iguales: $t = 2,034$ **valor-P = 0,047**

En este caso, la prueba se ha construido para determinar si la diferencia entre las dos medias es igual a 0,0. Puesto que el valor-P calculado es menor que 0,05, se puede rechazar la hipótesis nula en favor de la alterna y se puede decir que las medias de los tratamientos son diferentes.

3. Prueba de Kolmogorov-Smirnov

Para comparar las distribuciones de las dos muestras.

Estadístico DN estimado = 0,333

Estadístico K-S bilateral para muestras grandes = 1,224

Valor P aproximado = 0,009

Debido a que el valor-P es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las dos distribuciones con un nivel de confianza del 95,0%.

ANEXO 4: Análisis estadístico de a_w de la miga del pan de molde sin gluten con quinua envasados en polietileno y polipropileno.

Antes de realizar el análisis se comprobó el supuesto de normalidad de errores.

1. Errores siguen una distribución normal

Ho: Los errores se ajustan a una distribución normal.

Hi: Los errores no se ajustan a una distribución normal.

	Polipropileno	Polietileno
Sesgo Estandarizado	-0,189	-0,144
Curtosis Estandarizada	-1,854	-1,502

De particular interés son el sesgo estandarizado y la curtosis estandarizada que pueden usarse para comparar si las muestras provienen de distribuciones normales. Valores de estos estadísticos fuera del rango de -2 a +2 indican desviaciones significativas de la normalidad, lo que tendería a invalidar las pruebas que comparan las desviaciones estándar. En este caso, ambas muestras tienen valores de sesgo estandarizado y curtosis estandarizada dentro del rango normal.

2. Comparación de medias

Hipótesis nula: media 1 = media 2

Hipótesis alterna: media 1 \neq media 2

suponiendo varianzas iguales: $t = 2,146$ valor-**P** = **0,036**

Puesto que el valor-P calculado es menor que 0,05, se puede rechazar la hipótesis nula en favor de la alterna y se puede decir que las medias de los tratamientos son diferentes.

3. Prueba de Kolmogorov-Smirnov

Para comparar las distribuciones de las dos muestras.

Estadístico DN estimado = 0,370

Estadístico K-S bilateral para muestras grandes = 1,360

Valor P aproximado = 0,049

Debido a que el valor-P es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las dos distribuciones con un nivel de confianza del 95,0%.

ANEXO 5: Análisis estadístico de firmeza (kPa) de la miga del pan de molde sin gluten con quinua envasados en polipropileno y polietileno.

Antes de realizar el análisis se comprobó el supuesto de normalidad de errores.

1. Errores siguen una distribución normal

Ho: Los errores se ajustan a una distribución normal.

Hi: Los errores no se ajustan a una distribución normal.

	Polipropileno	Polietileno
Sesgo Estandarizado	1,057	1,231
Curtosis Estandarizada	1,451	1,940

De particular interés son el sesgo estandarizado y la curtosis estandarizada que pueden usarse para comparar si las muestras provienen de distribuciones normales. Valores de estos estadísticos fuera del rango de -2 a +2 indican desviaciones significativas de la normalidad, lo que tendería a invalidar las pruebas que comparan las desviaciones estándar. Ambas, sesgo y curtosis estandarizadas se encuentran dentro del rango esperado.

2. Comparación de medias

Hipótesis nula: media 1 = media 2

Hipótesis alterna: media 1 \neq media 2

Suponiendo varianzas iguales: $t = -1,715$ **valor-P = 0,088**

Puesto que el valor-P calculado es mayor que 0,05, no se puede rechazar la hipótesis nula y se puede decir que las medias de los dos tratamientos son iguales.

3. Prueba de Kolmogorov-Smirnov

Para comparar las distribuciones de las dos muestras.

Estadístico DN estimado = 0,160

Estadístico K-S bilateral para muestras grandes = 1,021

Valor P aproximado = 0,248

Debido a que el valor-P es mayor que 0,05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las dos distribuciones con un nivel de confianza del 95,0%.

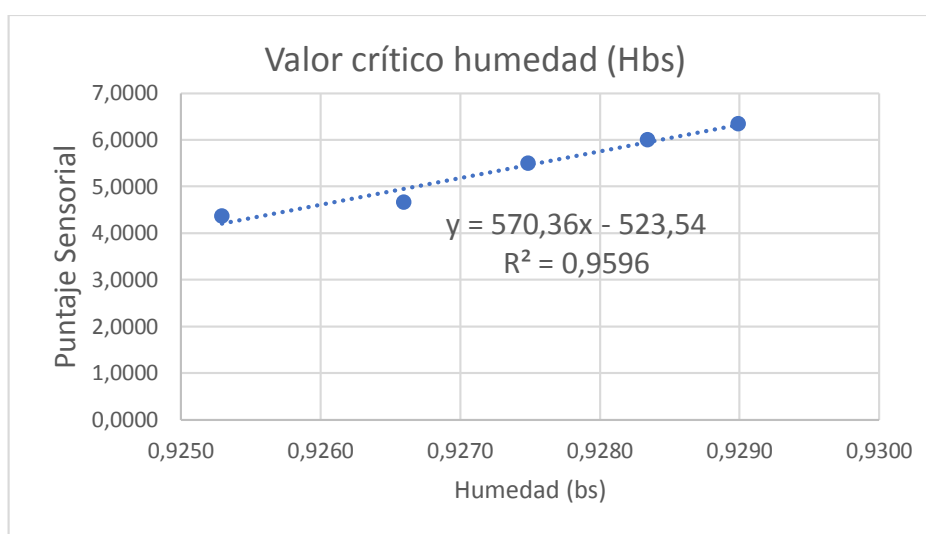
ANEXO 6: Metodología para encontrar los valores críticos en panes de molde sin gluten con quinua.

En el presente se muestra la secuencia para el cálculo de los valores críticos de la humedad (bs), a_w y firmeza del pan sin gluten con quinua.

1. Establecer que parámetro a plotear de la tabla de datos

Actividad de agua (a_w)	Porcentaje de humedad (bs)	Firmeza (kPa)	Aceptación sensorial
0,9279	0,9290	6,1820	6,3450
0,9264	0,9283	6,2730	6,0050
0,9258	0,9275	6,3788	5,5000
0,9224	0,9266	6,4628	4,6600
0,9181	0,9253	6,5458	4,3700

2. Se obtiene la gráfica (parámetro con respecto a el puntaje sensorial).



3. Se desarrolla la regresión procedente de la gráfica. Obteniéndose:

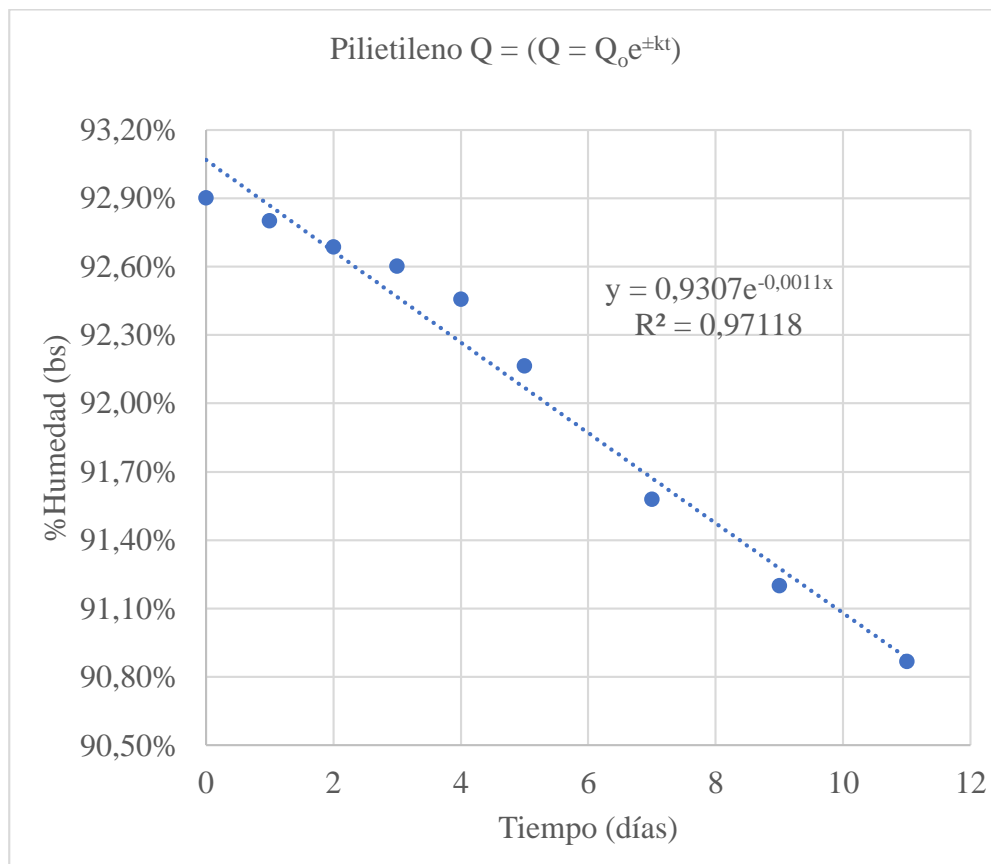
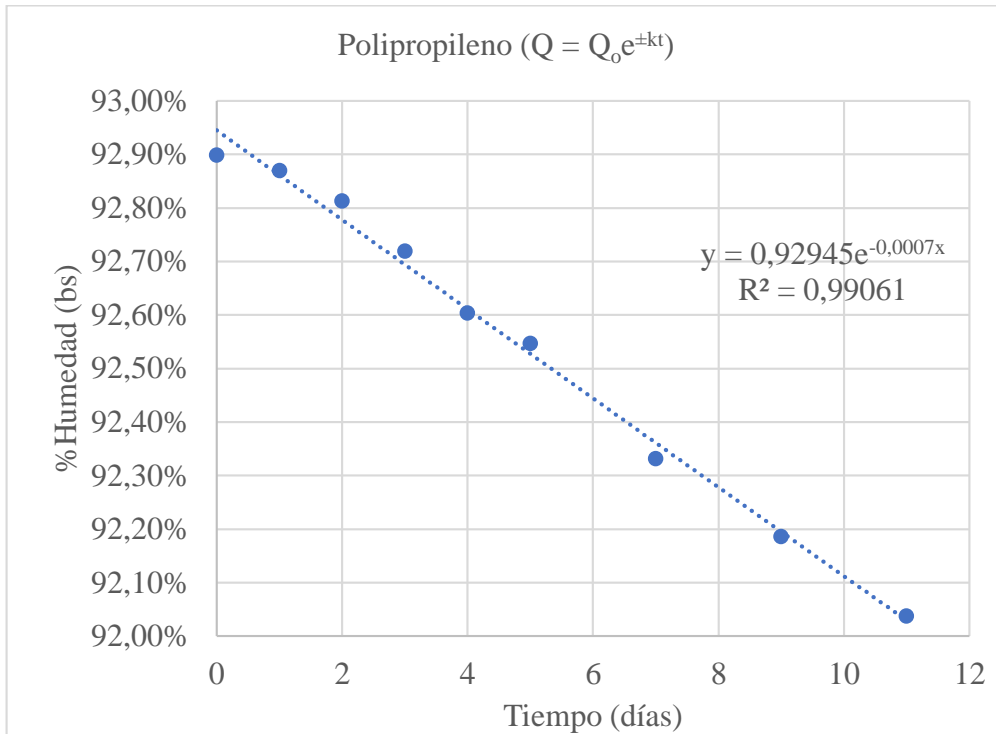
$$\text{Puntaje Sensorial} = 570,36(\text{Hbs crítica}) - 523,54$$

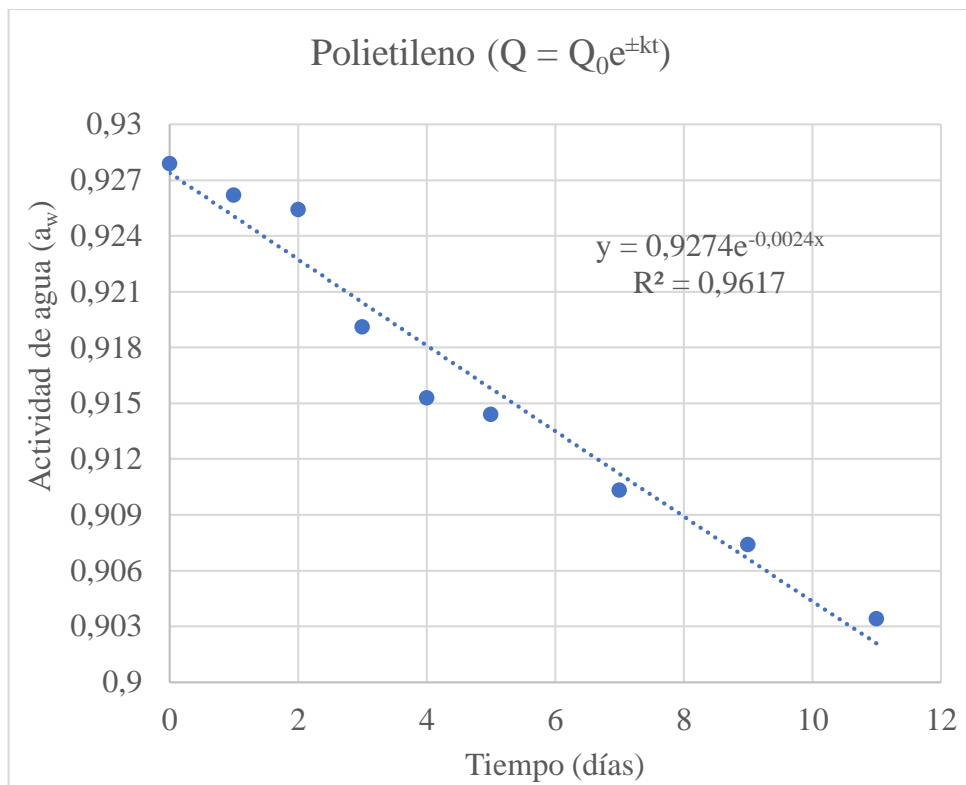
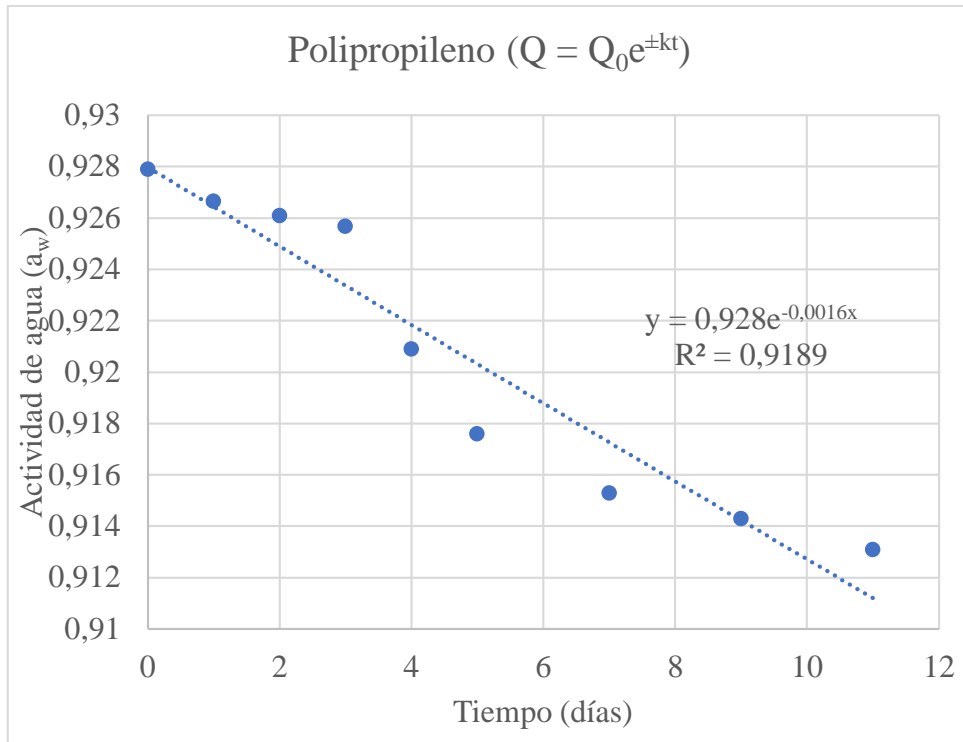
4. De la ecuación obtenida se reemplaza el puntaje sensorial con el valor 5 debido a que bajo este valor el pan sin gluten con quinua se vuelve inaceptable para el consumidor, obteniéndose la siguiente ecuación:

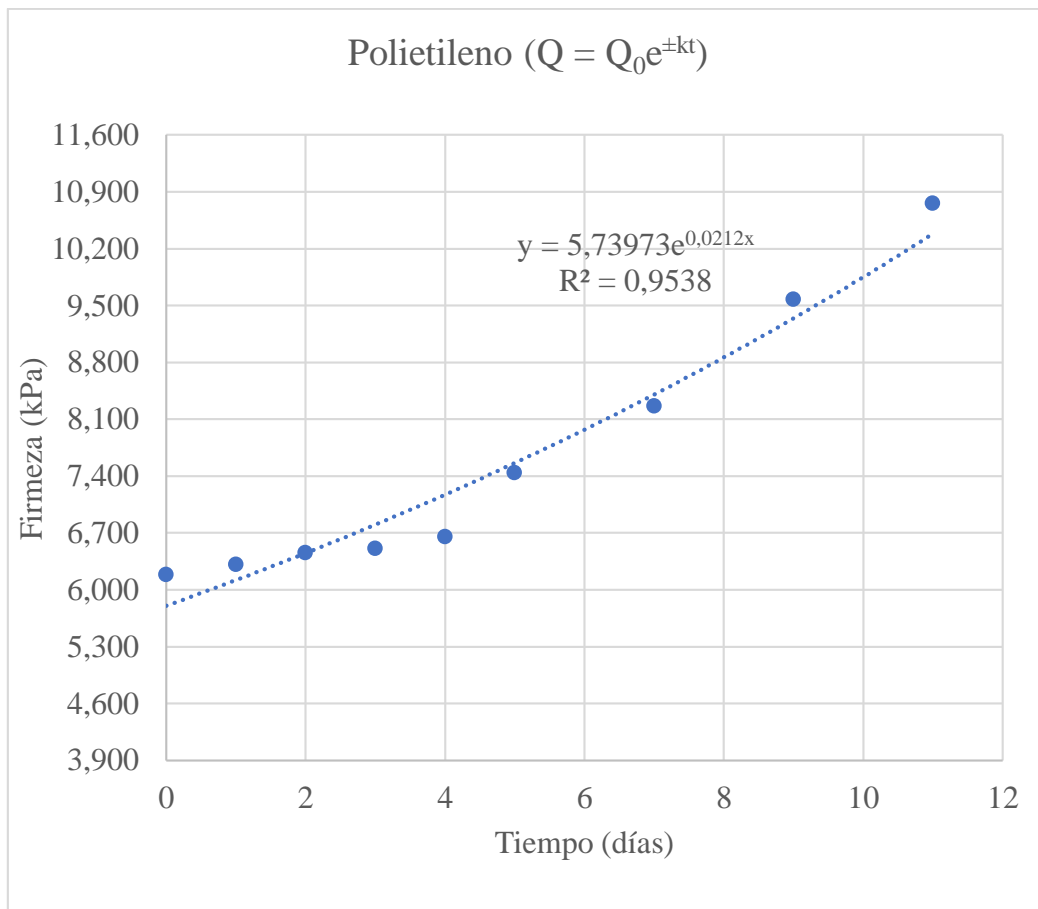
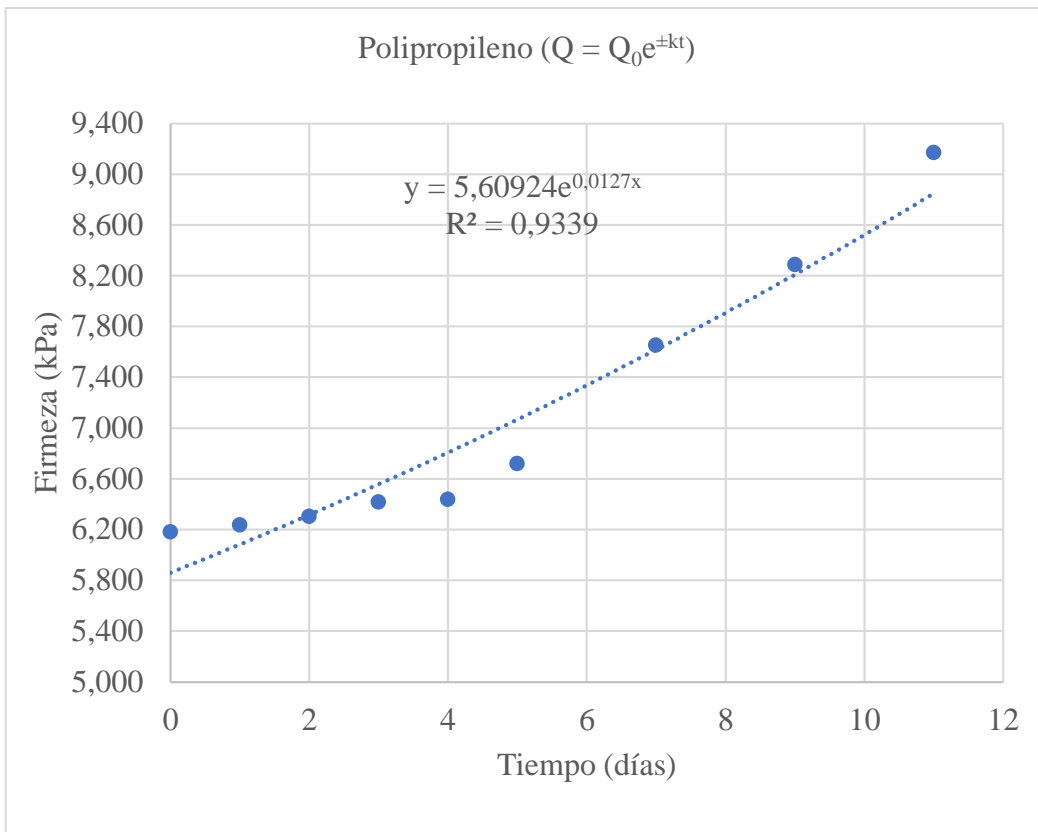
$$\text{Humedad}(bs_{\text{crítica}}) = \frac{(5 - (-523,54))}{570,36} = 0,92668$$

5. El valor crítico de humedad (bs) es de 0,92668.

ANEXO 7: Variación de la humedad (bs), actividad de agua y firmeza (kPa) en panes sin gluten con quinua empacados en polipropileno y polietileno.







ANEXO 8: Cuadro de parámetros de los diferentes modelos matemáticos de isothermas de sorción: Coeficiente de determinación (R^2), coeficiente de correlación, estadístico Durbin Watson y valor P

	Coeficiente de determinación	Coeficiente de correlación	Durbin Watson	Valor P análisis de varianza
Lewicki	99,11	0,9955	0,0393	0,0011
Peleg	99,48	0,9973	0,0442	0
Oswin	93,74	0,9679	0,0456	0,0001
BET	61,53	0,7844	0,3783	0,5270
GAB	91,64	0,9572	0,0471	0,0105

El valor-P de la tabla es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre los modelos y a_w con un nivel de confianza del 95,0%, excepto el modelo BET.

El estadístico R^2 indica que el modelo ajustado explica la variabilidad en cada modelo. El coeficiente de correlación, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos. Este valor puede usarse para construir límites de predicción para nuevas observaciones.

El error absoluto medio es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) examina los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa, Puesto que el valor-P es menor que 0,05, hay indicación de una posible correlación serial con un nivel de confianza del 95,0%. Excepto el modelo BET siendo su valor-P= 0,5270.

ANEXO 9: Análisis estadístico de la pérdida de humedad (bs) de panes de molde sin gluten con quinua envasados en polipropileno y polietileno.

Antes de realizar el análisis se comprobó el supuesto de normalidad de errores.

1. Errores siguen una distribución normal

Ho: Los errores se ajustan a una distribución normal.

Hi: Los errores no se ajustan a una distribución normal.

	Polipropileno	Polietileno
Sesgo Estandarizado	1,101	0,678
Curtosis Estandarizada	-1,327	-1,233

De particular interés son el sesgo estandarizado y la curtosis estandarizada que pueden usarse para comparar si las muestras provienen de distribuciones normales. Valores de estos estadísticos fuera del rango de -2 a +2 indican desviaciones significativas de la normalidad, lo que tendería a invalidar las pruebas que comparan las desviaciones estándar. En este caso, el sesgo y curtosis estandarizadas se encuentran dentro del rango esperado.

2. Comparación de medias

Hipótesis nula: media 1 = media 2

Hipótesis alterna: media 1 \neq media 2

Suponiendo varianzas iguales: $t = -2,997$ **valor-P = 0,004**

Puesto que el valor-P calculado es menor que 0,05, se puede rechazar la hipótesis nula y se puede decir que las medias de los tratamientos son diferentes.

3. Prueba de Kolmogorov-Smirnov

Para comparar las distribuciones de las dos muestras.

Estadístico DN estimado = 0,518

Estadístico K-S bilateral para muestras grandes = 1,905

Valor P aproximado = 0,001

Debido a que el valor-P es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las dos distribuciones con un nivel de confianza del 95,0%.

ANEXO 10: Análisis estadístico de la evaluación sensorial de panes de molde sin gluten con quinua envasados en polipropileno y polietileno.

Antes de realizar el análisis se comprobó el supuesto de normalidad de errores.

1. Errores siguen una distribución normal

Ho: Los errores se ajustan a una distribución normal.

Hi: Los errores no se ajustan a una distribución normal.

	Polipropileno	Polietileno
Curtosis Estandarizada	-0,007	-0,385

De particular interés es la curtosis estandarizada que pueden usarse para comparar si las muestras provienen de distribuciones normales. Valores de estos estadísticos fuera del rango de -2 a +2 indican desviaciones significativas de la normalidad, lo que tendería a invalidar las pruebas que comparan las desviaciones estándar. En este caso, ambas curtosis estandarizadas se encuentran dentro del rango esperado.

2. Comparación de medias

Hipótesis nula: media 1 = media 2

Hipótesis alternativa: media 1 \neq media 2

Valor-P = 0,000

Puesto que el valor-P calculado es menor que 0,05, se puede rechazar la hipótesis nula y se puede decir que las medias de los tratamientos son diferentes.

3. Prueba de Kolmogorov-Smirnov

Para comparar las distribuciones de las dos muestras.

Estadístico DN estimado = 0,269

Estadístico K-S bilateral para muestras grandes = 4,853

Valor P aproximado = 0,000

Debido a que el valor-P es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las dos distribuciones con un nivel de confianza del 95,0%.

ANEXO 11: Número de rechazos obtenidos en función del tiempo de panes de molde sin gluten con quinua envasados en polipropileno y polietileno. Si (aceptación del producto) y no (rechazo del producto)

	POLIPROPILENO					POLIETILENO				
	t1	t2	t3	t4	t5	t1	t2	t3	t4	t5
1	si	si	si	no	no	si	si	si	no	no
2	si	si	si	no	no	si	si	si	no	no
3	si	si	si	si	no	si	si	si	no	no
4	si	si	si	si	no	no	si	no	si	no
5	si	si	no	no	no	si	si	si	no	si
6	si	si	si	si	si	si	si	si	si	no
7	si	si	si	si	si	si	si	si	si	no
8	si	si	si	si	no	no	si	si	no	no
9	si	si	si	no	si	si	si	si	no	no
10	si	si	si	si	no	si	si	si	si	no
11	si	si	si	no	no	si	si	no	si	si
12	si	si	si	no	no	no	si	no	no	no
13	si	si	si	no	si	si	si	si	si	no
14	si	si	si	si	si	si	si	no	si	si
15	si	si	no	si	si	no	si	si	no	no
16	si	si	si	no	no	si	si	si	si	no
17	si	si	si	si	no	si	si	si	no	no
18	no	no	no	no	no	si	si	si	si	no
19	si	si	si	no	no	si	si	si	no	no
20	si	no	no	no	no	si	no	no	no	no
21	si	si	si	no	no	si	si	no	no	no
22	si	si	si	no	si	si	si	si	no	no
23	si	si	si	no	no	si	si	si	si	si
24	si	si	si	no	no	si	si	si	si	si
25	si	si	si	no	no	si	si	si	si	si
26	si	si	si	no	no	si	si	no	no	no
27	si	si	si	no	no	si	si	si	si	no
28	si	si	si	no	no	si	si	si	si	no
29	si	si	si	si	si	no	si	si	si	si

30	si	si	si	si	no	si	si	si	no	no
31	si	si	si	no	no	si	si	si	si	no
32	no	si	si	no	no	no	si	si	si	no
33	si	si	si	si	no	si	si	no	no	no
34	si	si	si	si	si	si	si	si	si	no
35	si	si	si	si	no	si	si	si	no	no
36	si	si	si	no	no	si	si	si	si	si
37	si	si	si	si	si	si	si	si	no	no
38	si	si	si	no	si	si	si	no	no	no
39	si	si	si	si	si	no	si	si	no	no
40	si	si	si	si	si	si	si	si	no	si
41	si	si	si	si	si	si	si	no	no	no
42	no	si	si	si	no	si	si	si	no	no
43	si	si	no	si	si	si	si	no	no	no
44	si	si	si	si	si	si	si	si	no	no
45	no	si	si	si	si	si	si	no	no	no
46	si	si	si	si	si	no	si	no	no	no
47	no	si	no	no	si	si	si	no	si	no
48	si	si	si	no	no	no	si	si	no	no
49	si	si	si	si	no	si	no	si	no	no
50	si	si	si	si	si	si	si	si	si	no
51	si	si	si	si	no	si	si	si	no	no
52	si	si	si	si	no	si	no	si	no	si
53	si	si	si	si	no	si	si	si	no	no
54	si	si	si	si	no	no	si	si	no	no
55	no	si	si	si	si	si	si	si	no	no
56	si	si	si	si	no	si	si	no	no	no
57	si	si	si	si	si	si	si	si	no	no
58	no	no	si	no	si	si	si	no	si	si
59	si	si	si	si	si	si	si	no	no	no
60	si	no	si	no	si	si	si	no	no	no
61	no	si	si	no	si	si	no	si	si	si
62	si	si	no	no	no	no	no	si	no	no
63	si	si	no	si	no	si	no	si	no	no

64	si	si	si	si	no	si	no	si	si	si
65	si	si	si	si	si	no	si	no	no	no
66	si	no	si	no	si	si	si	si	no	no
67	si	si	si	si	no	si	si	si	no	no
68	si	si	si	si	si	si	si	si	no	no
69	si	si	si	si	si	si	no	si	no	si
70	no	no	si	si	no	si	no	si	no	no
71	si	si	si	si	si	si	si	si	si	no
72	si	si	si	no	no	si	si	si	si	no
73	si	si	si	no	no	si	si	si	si	si
74	si	si	si	si	si	si	no	si	si	no
75	si	si	si	no	no	si	si	si	no	no
76	si	si	si	si	si	si	si	si	no	si
77	si	si	si	si	no	si	si	si	si	no
78	si	si	no	si	no	no	no	si	si	si
79	no	si	si	si	si	no	si	si	no	no
80	si	no	si	si	si	si	si	si	si	no
81	si	si	si	no	si	si	no	si	si	no
82	si	si	si	si	no	si	no	si	si	no
83	si	no	si	no	no	si	si	si	si	no
84	si	si	no	no	si	no	si	si	si	no
85	si	si	si	si	no	si	si	si	no	no
86	si	si	no	si	si	si	no	no	no	no
87	si	si	si	si	no	si	si	no	no	no
88	si	si	no	no	no	si	si	no	no	no
89	si	si	si	si	no	no	si	si	no	no
90	si	si	si	si	no	si	si	no	no	no
91	si	no	si	si	no	no	si	si	si	no
92	si	si	si	no	no	si	si	si	no	no
93	si	si	si	no	no	si	si	si	si	no
94	si	si	si	no	no	si	no	si	no	no
95	si	no	si	no	no	si	si	si	no	no
96	si	si	si	si	no	no	si	no	no	no
97	si	si	si	si	si	si	si	si	si	no

98	si	si	si	no	no	si	no	no	no	no
99	si	si	no	si	si	si	si	si	no	no
100	si	si	si	no	no	no	si	si	no	no
101	si	si	si	si	no	no	si	si	no	no
102	si	no	si	si	no	si	si	no	si	si
103	si	si	si	no	no	no	si	si	no	no
104	si	si	si	no	no	si	si	si	si	no
105	no	si	no	no	si	si	si	si	si	no
106	si	si	si	no	no	si	si	si	si	no
107	no	si	no	no	si	no	si	no	no	no
108	si	si	si	no	no	si	si	si	no	no
109	si	si	si	no	no	si	no	si	si	no
110	si	si	si	no	no	no	si	no	no	no
111	si	no	si	si	no	si	si	si	si	no
112	si	si	si	si	no	si	si	no	si	si
113	si	no	si	no	no	si	si	no	no	no
114	si	si	no	no	no	si	si	si	no	no
115	si	si	si	si	no	no	si	si	no	si
116	si	si	si	si	no	si	no	no	si	si
117	si	si	si	si	no	no	si	no	no	no
118	si	si	si	no	no	no	si	si	no	no
119	si	si	si	si	no	si	si	si	no	no
120	si	si	no	no	no	si	si	si	si	no
121	si	si	si	si	no	si	si	no	no	no
122	si	no	no	si	si	si	si	no	no	no
123	si	no	si	si	si	si	si	si	no	si
124	si	si	no	no	no	si	si	si	no	no
125	si	no	no	si	no	si	no	no	no	no
126	si	si	si	si	no	si	si	no	no	si
127	si	si	no	no	si	si	si	no	si	no
128	si	si	si	si	no	si	si	si	no	no
129	si	si	no	si	si	si	si	no	no	no
130	si	no	si	no	no	si	si	no	si	no