UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

Tesis

Efecto antifúngico del aceite esencial de la cáscara de naranja in vitro, aplicado en pan de molde y su caracterización

Presentado por:

Rosali Magali Huañahue Mamani

Para optar el título de Ingeniero Agroindustrial

Abancay, Perú

2026

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

TESIS

Efecto antifúngico del aceite esencial de la cáscara de naranja in vitro, aplicado en pan de molde y su caracterización

Presentado por **Rosali Magali Huañahue Mamani**, para optar el título de Ingeniero Agroindustrial

Sustentado y aprobado el 11 de junio de 2026, ante el jurado evaluador:

Presidente:

M.Sc. Víctor Hugo Sarmiento Casavilca

Primer miembro:

Mg. Jorge Beltrán Mendoza Cáceres

Segundo miembro:

Dr. Saúl Moreano Carrasco

Asesores:

Dra. Guadalupe Chaquilla Quilca

Dra. Gladys Marilú Castro Pérez

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD N°140-2026

La Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, a través de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería declara que, la tesis titulada: **Efecto antifúngico del aceite esencial de la cáscara de naranja in vitro, aplicado en pan de molde y su caracterización**, presentado por la Bachiller: **Rosali Magali Huañahue Mamani**, para optar el título de **Ingeniero Agroindustrial;** ha sido sometido a un mecanismo de evaluación y verificación de similitud, a través del Software Turnitin, siendo el índice de **similitud ACEPTABLE** de **(18%)** por lo que, cumple con los criterios de originalidad establecidos en el reglamento de investigación, aprobado con Resolución N°168-2024(2)-CU-UNAMBA.

Abancay, 04 de junio del 2026

Atentamente,

UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS
FACULTAD DE INGENIERÍA

Dr. Walquer Huaccani Calsin
DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA

C. c:
Archivo/
WHCE/D-UIFI
YOVANA / SEC
REG. N°459

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Agradecimiento

Expreso mi más profundo agradecimiento a Dios por brindarme salud, fortaleza y perseverancia para culminar el presente trabajo de investigación.

Mi sincero reconocimiento a mis asesoras Dra. Guadalupe Chaquilla Quilca y Dra. Gladys Marilú Castro Pérez, por su orientación, por compartir sus conocimientos, valiosas recomendaciones brindadas, toda la paciencia y el tiempo para guiarme durante todo el desarrollo del proyecto de investigación.

A la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac y a los docentes de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial por los conocimientos transmitidos durante mi formación académica.

Esta tesis fue ganadora y financiada parcialmente, a través del Vicerrectorado de Investigación de la UNAMBA, mediante el concurso de proyectos de investigación tesis -2024.

A la Ingeniera Shierly Medina Pérez, por ayudarme en el desarrollo de los análisis del presente trabajo.

A mis abuelos y mi tía por el amor y su apoyo incondicional.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Dedicatoria

Dedico este presente trabajo de investigación con mucho cariño a mis queridos abuelos y familiares, quienes me apoyaron en todo momento, por todo el amor que siempre me muestran y han sido mi motivación para seguir adelante. A mi tía Yanet, por el apoyo incondicional.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Efecto antifúngico del aceite esencial de la cáscara de naranja in vitro, aplicado en pan de molde y su caracterización

Línea de investigación: Caracterización, desarrollo de procesos e innovación en la agroindustria.

Esta publicación está bajo una Licencia Creative Commons



Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

ÍNDICE

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
RESUMEN	3
ABSTRACT	4
CAPÍTULO I	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
1.1 Descripción del problema	5
1.2 Enunciado del problema	6
1.2.1 Problema general	6
1.2.2 Problemas específicos	6
1.3 Justificación de la investigación	6
1.4 Ubicación y contextualización	7
CAPÍTULO II	8
OBJETIVOS E HIPÓTESIS	8
2.1 Objetivos de la investigación	8
2.2.1 Objetivo general	8
2.2.2 Objetivos específicos	8
2.2 Hipótesis de la investigación	9
2.2.1 Hipótesis general	9
2.2.2 Hipótesis específicas	9
2.3 Operacionalización de variables	9
2.3.1 Identificación de variables de la aplicación in vitro	9
2.3.2 Operacionalización del cuadro de variables	10
2.3.3 Identificación de variables de la aplicación en el pan molde	10
CAPÍTULO III	12
MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	12
3.1 Antecedentes	12
3.2 Marco teórico	14
3.2.1 Generalidades	14
3.2.1.1 Naranja	14
3.2.1.2 Aceite esencial	16

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

3.2.1.3 Extracción de aceite esenciales 17
3.2.2. Generalidades del pan de molde 25
3.2.2.1 Características del pan de molde 25
3.2.2.2 Deterioro microbiológico del pan de molde 26
3.3 Marco conceptual 32
CAPÍTULO IV 34
METODOLOGÍA 34
4.1 Tipo y nivel de investigación 34
4.2 Diseño de la investigación 34
4.3 Descripción ética de la investigación 35
4.4 Población y muestra 36
4.4.1 Población 36
4.4.2 Muestra 36
4.5 Procedimiento 37
4.6 Técnica e instrumentos 45
4.7 Estadístico de investigación 51
CAPÍTULO V 53
RESULTADOS Y DISCUSIONES 53
5.1. Análisis de los resultados 53
5.2 Contrastación de hipótesis 65
5.3 Discusiones 68
CAPITULO VI 77
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 77
6.1 Conclusiones 77
6.2 Recomendación 78
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 79
ANEXOS 85

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

ÍNDICE DE TABLAS

Pág.

Tabla 1 — Operacionalización del cuadro de variables aplicados in vitro 10

Tabla 2 — Operacionalización del cuadro de variable en segunda atapa de la aplicación en el pan molde 11

Tabla 3 — Clasificación botánica de naranja (*citrus sinensis*) 15

Tabla 4 — Componentes y porcentajes de la cáscara de naranja dulce 16

Tabla 5 — Principales constituyentes del aceite de la cáscara de cítricos 21

Tabla 6 — Características fisico-químicas de un buen aceite esencial según la farmacopea de EE.UU y Francia 22

Tabla 7 — Aceites esenciales en Europa según industria y segmento 24

Tabla 8 — Composición química del pan de molde 25

Tabla 9 — Especificaciones fisicoquímicas del pan de molde 29

Tabla 10 — Criterios microbiológicas para productos de panadería 30

Tabla 11 — Diseño para la aplicación in vitro 34

Tabla 12 — Diseño de aplicación en segunda etapa 35

Tabla 13 — Evaluación sensorial a escala hedónica 49

Tabla 14 — Análisis microbiológico 56

Tabla 15 — Resultados de la evaluación del efecto antifúngico in vitro sobre R*hizopus Spp* del aceite esencial 84

Tabla 16 — Anova para efecto antifúngico invtro sobre *Rhizopus Spp*. 85

Tabla 17 — Comparaciones en parejas de Tukey al 95% 85

Tabla 18 — Resultados de la evaluación del efecto antifúngico in vitro sobre Penicillium del aceite esencial 86

Tabla 19 — Anova para efecto antifúngico invtro sobre *Penicillium Spp.* 87

Tabla 20 — Comparaciones en parejas de Tukey al 95% 87

Tabla 21 — Anova para análisis microbiologico 88

Tabla 22 — Comparaciones en parejas de Tukey al 95% 88

Tabla 23 — Anova para humedad 89

Tabla 24 — Comparaciones en parejas de Tukey al 95% 89

Tabla 25 — Anova para Potencial de Hidrógeno (pH) 89

Tabla 26 — Comparaciones en parejas de Tukey al 95% 90

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Tabla 27 — Anova para Color instrumental para L 90
Tabla 28 — Comparaciones en parejas de Tukey al 95% 90
Tabla 29 — Anova para Color instrumental para a 90
Tabla 30 — Comparaciones en parejas de Tukey al 95% 91
Tabla 31 — Anova para Color instrumental para b 91
Tabla 32 — Comparaciones en parejas de Tukey al 95% 91
Tabla 33 — Prueba de Friedman: color vs. tratamiento 92
Tabla 34 — Prueba de Friedman: olor vs. tratamiento 92
Tabla 35 — Prueba de Friedman: textura vs. tratamiento 93
Tabla 36 — Prueba de Friedman: sabor vs. tratamiento 93

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura 1 — Corte transversal de la naranja 16

Figura 2 — Destilación por arrastre en corriente a vapor 18

Figura 3 — Equipo de hidrodestilación 19

Figura 4 — Extracción por solvente orgánico 19

Figura 5 — Prensado en frío 20

Figura 6 — *Penicillium sp*. 31

Figura 7 — *Rhizopus Spp.* 32

Figura 8 — Diagrama de flujo de extracción de aceite esencial 37

Figura 9 — Evaluación antimicrobiana de aceite esencial de cáscara de naranja contra hongos contaminantes de productos de panadería 42

Figura 10 — Diagrama de flujo de la elaboración de pan de molde 43

Figura 11— Crecimiento de Rhizopus sp. por tratamiento. 51

Figura 12 — Crecimiento de Penicilium sp. por tratamiento 52

Figura 13 — Determinación de humedad del pan de molde 55

Figura 14 — Comparación de medias de pH de los tratamientos 55

Figura 15 — Comparación de medias colorimétrica de L* 58

Figura 16 — Comparación de medias colorimétrica de a* 58

Figura 17 — Comparación de medias colorimétrica de b* 58

Figura 18 — Comparación de medias del color entre los tratamientos 59

Figura 19 — Comparación de medias del olor entre los tratamientos 60

Figura 20 — Comparación de medias del sabor entre los tratamientos 61

Figura 21 — Comparación de medias del textura entre los tratamientos 62

Figura 22 — Curva de Prueba de normalidad in vitro en *Penicilllium ssp.* 94

Figura 23 — Histograma de Prueba de normalidad in vitro en *Penicilllium ssp.* 94

Figura 24 — Curva de Prueba de normalidad in vitro en *Rhizopus Spp.* 95

Figura 25 — Histograma de Prueba de normalidad in vitro en *Rhizopus Spp.* 95

Figura 26 — Curva de Pruebas de normalidad para Humedad 96

Figura 27 — Histograma de Pruebas de normalidad para Humedad 96

Figura 28 — Curva de Pruebas de normalidad para Ph 97

Figura 29 — Histograma de Pruebas de normalidad para pH 97

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Figura 30 — Curva de Pruebas de normalidad para L 98
Figura 31 — Histograma de Pruebas de normalidad para L 98
Figura 32 — Curva de Pruebas de normalidad para a 99
Figura 33 — Histograma de Pruebas de normalidad para a 99
Figura 34 — Curva de Pruebas de normalidad para b 100
Figura 35 — Histograma de Pruebas de normalidad para b 100
Figura 36 — Curva de Pruebas de normalidad para Microbiológico 101
Figura 37 — Histograma de Pruebas de normalidad para Microbiológico 101
Figura 38 — Curva de probabilidad para color 102
Figura 39 — Histograma de Pruebas de probabilidad para color 102
Figura 40 — Curva de probabilidad para olor 103
Figura 41 — Histograma de Pruebas de probabilidad para olor 103
Figura 42 — Curva de probabilidad para textura 104
Figura 43 — Histograma de Pruebas de probabilidad para textura 104
Figura 44 — Curva de probabilidad para sabor 105
Figura 45 — Histograma de Pruebas de probabilidad para sabor 105
Figura 46 — Panel fotográfico de extracción de aceite esencial 106
Figura 47 — Panel fotográfico de extracción de aceite esencial 107
Figura 48 — Evaluación antifúngico del aceite esencial de naranja contra *Penicillium spp*. en concentraciones 0.1 %, 0.3 % y 0.5 % en 72 horas de incubación. 108
Figura 49 — Evaluación antifúngico del aceite esencial de naranja contra *Penicillium spp.* en concentraciones 0.1 %, 0.3 % y 0.5 % en 72 horas de incubación. 109
Figura 50 — Panel fotográfico de elaboración de pan de molde y aplicación con aceite esencial. 110
Figura 51 — Panel fotográfico de análisis fisicoquímico del pan de molde aplicación con aceite esencial 111
Figura 52 — Panel fotográfico de análisis microbiológico 112
Figura 53 — Panel fotográfico de análisis microbiológico 113
Figura 54 — Panel fotográfico de análisis sensorial 114
Figura 55 — Ficha de evaluación sensorial de pan de molde. 115

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

INTRODUCCIÓN

En Perú, la cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) ha sido desaprovechada en calidad de un subproducto de la industria de procesamiento de cítricos, considerándose principalmente un residuo con poca utilidad. Esta situación representa una pérdida de recursos potencialmente valiosos, especialmente por el contenido de aceite esencial presente en dicha cáscara.

Actualmente, las empresas agroindustriales buscan alternativas que permitan revalorizar los residuos generados durante los procesos productivos, debido a que estos ocasionan costos adicionales y posibles impactos ambientales. En este contexto, la presente investigación se enfoca en los avances relacionados con la aplicación de AE (aceites esenciales), tanto in vitro como en productos panificados, con la finalidad de disminuir el deterioro ocasionado por mohos.

La proliferación de hongos en productos de panadería, como *Penicillium sp.* y *Rhizopus sp.*, ha impulsado el uso de conservantes sintéticos en la industria panadera. Entre ellos destaca el propionato de calcio, utilizado para alargar la vida útil del pan de molde; sin embargo, su consumo prolongado podría generar efectos adversos, tales como alergias o toxicidad. Frente a ello, se han planteado alternativas naturales, como los aceites esenciales, para reducir o reemplazar la aplicación de conservantes químicos en la elaboración del pan de molde Tique 2017.

Por ello, la presente investigación corresponde a un estudio de nivel exploratorio y descriptivo se desarrolló en dos etapas. En la primera etapa, correspondiente al ensayo in vitro en el cual se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con tres concentraciones de aceite esencial (0.1 %, 0.3 % y 0.5 %) y dos microorganismos (*Penicillium sp.* y *Rhizopus sp.*), incluyendo un tratamiento control sin aceite esencial. En la segunda etapa, se aplicó también un DCA (diseño completamente al azar) considerando dos métodos de aplicación (directa y spray) y tres niveles de concentración del aceite esencial (0,5 mL 1 mL y 3 mL), además del tratamiento control.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Finalmente, el aceite esencial se aplicó en pan de molde con el propósito de evaluar su efecto antifúngico in vitro y determinar la influencia de las diferentes proporciones y métodos de aplicación sobre las características microbiológicas y fisicoquímicas del producto.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) aplicado en varias concentraciones en el pan de molde sobre las características microbiológica, fisicoquímica y sensorial. Aplicados en dos métodos (método directo y método spray), para ello se analizaron aspectos como las proporciones adecuadas del aceite esencial, características microbiológicas, fisicoquímicas y sensoriales. Los datos fueron analizados con un diseño DCA con 3 proporciones (0.1 %, 0.3 % y 0.5 %) y 2 microorganismos (*Penicillium sp.* y *Rhizopus sp*) incluido control 0% de AEN (aceite esencial de naranja), para cada uno por separado con análisis de varianza (ANOVA) simple. Los análisis fisicoquímicos fueron; Humedad 16.7 a 22.2 %, pH 5.79 a 5.95 y los valores de color del pan de molde presentaron valores de L*, a* y b*; tonos más claros, rojos y amarillos, El análisis microbiológico de acuerdo a las normas de sanidad los resultados se encuentran dentro de los rangos aceptados, en cuanto el efecto antifungica del aceite esencial el método directo es más eficiente en el pan de molde, en cuanto análisis sensorial se evaluó a escala hedónica de 1 a 9 se realizó la evaluación sensorial del pan de molde donde; (9 les gustó excesivamente y 1 no me gustó absolutamente), los promedios de las medias entre los tratamientos variaron sabor 7.27 a 6.33, textura 6.63 a 7.17, olor 6.83 a 7.57 y color 7.27 a 7.77 %. Los resultados mostraron que el aceite esencial es antifúngico contra el *Rhizopus* y *Penicillium* en las proporciones 1mL y 2 mL siendo más efectivo por el método directo.

Palabras clave: *In vitro 1, antifungico 2, Penicillium sp. 3, Rhizopus sp.4.*

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the in vitro antifungal effect of orange peel essential oil (Citrus sinensis) applied in various proportions to sliced bread on its microbiological, physicochemical, and sensory characteristics. Two methods were used (direct application and spray application). Aspects such as the appropriate proportions of essential oil, microbiological, physicochemical, and sensory characteristics were analyzed. Data were analyzed using a completely randomized design (DCA) with three proportions (0.1, 0.3, and 0.5 %) and two microorganisms (Penicillium paneum and Rhizopus spp.), including a 0 % essential oil control for each, using a one-way analysis of variance (ANOVA). Physicochemical analyses showed moisture content (16.7–22.2 %), pH (5.79–5.95), and crumb color values of the sliced bread (L*, a*, and b*). Lighter, reddish, and yellow tones were observed. Microbiological analysis, conducted according to health standards, yielded results within acceptable ranges. Regarding the antifungal effect of the essential oil, the direct method proved more effective on sliced bread. Sensory analysis was performed using a hedonic scale of 1 to 9. The results showed that 9 respondents liked the bread excessively, while 1 did not like it at all. The average scores for the treatments varied: flavor (7.27 to 6.33), texture (6.63 to 7.17), aroma (6.83 to 7.57), and color (7.27 to 7.77). The results demonstrated that the essential oil is antifungal against Rhizopus and Penicillium molds at concentrations of 1 % and 2 %, respectively, with the direct method being more effective.

Keywords**:** *In vitro 1, antifungal 2, Penicillium spp. 3, Rhizopus spp. 4.*

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción del problema

En Perú se han desarrollado industrias que procesan naranja; sin embargo, la cáscara no ha sido aprovechada racionalmente, constituyéndose en producto de desecho, utilizándose en un mínimo porcentaje en la elaboración de mermeladas. En algunas zonas las cáscaras de naranja son desechadas después del pelado, utilizándose únicamente el zumo; esto indica que no se aprovecha integralmente desperdiciando el subproducto presente en la cáscara, que es el aceite esencial Pezo, 2000.

El pan de molde constituye uno de los productos de panificación de mayor consumo debido a su practicidad, textura y facilidad de conservación. En el Perú, el consumo promedio de pan alcanza aproximadamente 15,1 kg por persona al año, evidenciando la importancia de este alimento en la dieta diaria de la población. Sin embargo, presenta una vida útil limitada, ya que su composición y contenido de humedad favorecen el crecimiento de microorganismos, principalmente hongos como *Penicillium sp., Rhizopus sp,* los cuales ocasionan deterioro físico, pérdida de calidad y riesgos para la salud del consumidor.

En la industria panadera, para reducir el crecimiento microbiano y prolongar la conservación del pan, se utilizan conservantes químicos; no obstante, en los últimos años existe una creciente preocupación por el consumo de aditivos sintéticos debido a sus posibles efectos adversos en la salud. Esta situación ha generado interés en la búsqueda de alternativas naturales con actividad antimicrobiana que permitan mejorar la inocuidad y estabilidad del producto sin afectar sus características sensoriales Peralta, 2017.

Una alternativa es el uso de aceite esencial extraído de la cáscara de naranja que presenta compuestos bioactivos beneficiosos para la salud y conservación de alimentos Reátegui, 2005. Aprovechando su efecto antifúngico se puede aplicar en pan de molde en diferentes proporciones y evaluar las características microbiológicas, fisicoquímicos y sensoriales.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

1.2 Enunciado del problema

1.2.1 Problema general

¿Qué concentración de aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) presenta mayor efecto antifúngico in vitro contra *Penicillium sp.* y *Rhizopus sp.* y cómo influye en las características microbiológicas, fisicoquímicas y sensoriales del pan de molde?

1.2.2 Problemas específicos

- ¿Qué proporción del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) tendrá efecto antifúngico in vitro sobre *Penicillium sp.* y *Rhizopus sp.*?

- ¿Qué características microbiológicas presentará el pan de molde tratado con aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) en diferentes proporciones y aplicaciones como efecto antifúngico?

- ¿Qué características fisicoquímicas presentará el pan de molde tratado con aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) en diferentes proporciones y aplicaciones como efecto antifúngico?

- ¿Qué características sensoriales presentará el pan de molde tratado con aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) en diferentes proporciones y aplicaciones como efecto antifúngico?

1.3 Justificación de la investigación

La presente investigación tiene como finalidad generar valor agregado a las cáscaras o residuos de naranja, de los cuales se puede extraer aceite esencial con diversas propiedades funcionales, tales como actividad antimicrobiana, antifúngica y antioxidante, por lo que puede ser utilizado como conservante natural Vargas, 2011.

En ese sentido, este estudio busca evaluar el efecto antifúngico del aceite esencial de cáscara de naranja aplicado al pan de molde, con la finalidad de prolongar su vida útil y reducir el crecimiento de mohos, garantizando así la inocuidad del producto. La calidad sanitaria del pan de molde puede verse afectada por las toxinas producidas por los hongos que se desarrollan durante el almacenamiento; por ello, en la industria

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

alimentaria se emplean conservantes químicos antimohos que, a largo plazo, pueden generar efectos secundarios en la salud. Frente a esta problemática, el uso del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) representa una alternativa natural y segura para la conservación del pan de molde Hernández, 2011.

Asimismo, diversos estudios señalan que el aceite esencial de naranja contiene compuestos con propiedades antifúngicas, destacando el limoneno como principal monoterpeno identificado, además de otros componentes como β-mirceno, β-pineno, α-pineno y citral Z y E. El limoneno representa aproximadamente el 96,62 % del aceite esencial y posee una concentración mínima inhibitoria frente al crecimiento de mohos Lima y otros 2020.

Por consiguiente, la aplicación del aceite esencial de cáscara de naranja como conservante natural en el pan de molde permitirá disminuir el uso de conservantes químicos y extender la vida útil del producto, obteniéndose un alimento más natural y con adecuadas características microbiológicas, fisicoquímicas y sensoriales.

1.4 Ubicación y contextualización

El presente proyecto de investigación se realizó en departamento de Apurímac en la provincia y distrito de Abancay en la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac en la facultad de Ingeniería, Escuela profesional de agroindustrial, La altitud del territorio de Abancay es entre los 2.378 m.s.n.m. lo cual la naranja se adapta a estas altitudes desde los 1.200 m.s.n.m. La cáscara fue recolectada de zonas de venta de jugos cítricos para su extracción de aceite esencial posteriormente el aceite será aplicado en el pan de molde como antifúngico con la finalidad de prolongar la vida útil.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

CAPÍTULO II
OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 Objetivos de la investigación

2.1.1 Objetivo general

Determinar la concentración del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) con efecto antifúngico en *Penicillium sp.* y *Rhizopus sp.* in vitro, aplicado en pan de molde y evaluar las características microbiológicas, fisicoquímicas y sensoriales.

2.1.2 Objetivos específicos

- Determinar la proporción del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) con efecto antifúngico in vitro sobre *Penicillium sp.* y *Rhizopus sp.*

- Evaluar las características microbiológicas de pan de molde tratado con aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis)* en diferentes proporciones y aplicaciones como efecto antifúngico.

- Evaluar las características fisicoquímicas de pan de molde tratado con aceite esencial de cáscara de naranja (C*itrus sinensis)* en diferentes proporciones y aplicaciones como efecto antifúngico.

- Evaluar las características sensoriales de pan de molde tratado con el aceite esencial de cáscara de naranja (C*itrus sinensis)* en diferentes proporciones y aplicaciones como efecto antifúngico.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

2.2 Hipótesis de la investigación

2.2.1 Hipótesis general

La proporción del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) con efecto antifúngico en *Penicillium sp.* y *Rhizopus* sp. in vitro, aplicado en pan de molde influye en las características microbiológicas, fisicoquímicas y sensoriales.

2.2.2 Hipótesis específicas

- La proporción del aceite esencial de cáscara de naranja (C*itrus sinensis*) presenta efecto antifúngico sobre *Penicillium sp.* y *Rhizopus* sp.

- La aplicación de diferentes proporciones de aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) influye significativamente en las características microbiológicas del pan de molde.

- La aplicación de diferentes proporciones de aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) influye significativamente en las características fisicoquímicas del pan de molde.

- La aplicación de diferentes proporciones de aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) influye significativamente en las características sensoriales del pan de molde.

2.3 Operacionalización de variables

2.3.1 Identificación de variables de la aplicación in vitro

a) Variables independientes:

- Porcentaje del aceite esencial 0.1 %, 0.3 % y 0.5 %
- Microorganismo: *Penicillium sp.* y *Rhizopus* sp..

b) Variables dependientes:

- Análisis microbiología (CMI)

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

2.3.2 Operacionalización del cuadro de variables

Tabla 1 — Operacionalización del cuadro de variables aplicados in vitro

Variables	Indicador	Unidad de la medida (índice)
Independientes		
• Porcentaje del aceite esencial • Microrganismos	• 0.1 % • 0.3 % • 0.5 % • *Penicillium sp.* • *Rhizopus sp*	• mL • UFC
Dependiente		
• Análisis microbiológico	• Conteo de colonias	• col/g (10^3 UFC/g para mohos)
NOTA Los porcentajes de AEN se aplicó por separado para cada microorganismo, *Penicillium sp.*(0.1 %, 0.3 % y 0.5 %) *Rhizopus sp.* (0.1 %, 0.3 % y 0.5 %).		

2.3.3 Identificación de variables de la aplicación en el pan molde

a) Variables independientes:

- Concentraciones del aceite esencial 0.5, 1 y 2 mL
- Aplicaciones (directo y spray).

b) Variables dependientes:

- Análisis microbiológico
- Análisis fisicoquímicos
- Evaluación sensorial

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Tabla 2 — Operacionalización del cuadro de variable en segunda atapa de la aplicación en el pan molde

Variables	Indicador	Unidad de la medida (índice)
Independientes		
• **Concentraciones del aceite esencial**	• 0.5 mL • 1 mL • 2 mL	• mL
• **Aplicaciones**	• Aplicación directo • Aplicación en spray	• Nominal • Nominal
Dependiente		
• **Análisis microbiológico**	• *Penicillium sp.* • *Rhizopus sp*	• 10^3 UFC/g.
• **Análisis fisicoquímicos**	• Humedad • pH • Color instrumental	• % • Adimensional • L, a, b
• **Análisis sensorial**	• Color • Olor • Textura • Sabor	• Escala hedónica • Escala hedónica • Escala hedónica • Escala hedónica
Clave *10^3 UFC/g**.** Unidades Formadoras de Colonias por cada gramo de muestra, límite máximo permitido de mohos.		

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

CAPÍTULO III
MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

3.1 Antecedentes

a) Según Quispe-Condori 2009. En una investigación realizada con "pan artesanal ezequiel (CITAL) y pan comercial Superbueno, se evaluó el aceite esencial de clavo (Eugenia caryophyllus) como conservante natural con actividad antifúngica". Los resultados evidenciaron la ausencia de crecimiento de mohos durante un periodo de almacenamiento de hasta 57 días. Además, al comparar su eficacia con un conservante comercial a base de aceites esenciales cítricos, se determinó que el aceite esencial de clavo presentó una capacidad inhibitoria similar, demostrando su potencial para la conservación de productos de panificación.

b) De acuerdo Martínez et al., 2008, donde "extrajo y caracterizó el aceite esencial de lima con el propósito de evaluar su actividad antimicrobiana frente a Aspergillus flavus". Para ello, se empleó un sistema modelo utilizando agar papa dextrosa con un pH de 5.6 ± 0.2, al que se incorporaron diferentes concentraciones de aceite esencial (1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 % y 7 %). Posteriormente, los medios fueron inoculados con $5x10^3$ esporas de Aspergillus flavus, determinando el crecimiento radial diario y observando la adaptación del moho a 4% de concentración de aceite con media y 7% de aceite es muy lenta. Luego se evalúa la actividad antimicrobiana del pan tipo "panque". utilizando concentraciones de 3 % y 7 %. Aunque los ensayos in vitro mostraron actividad antifúngica frente al moho, los resultados obtenidos en el producto final no fueron los esperados. Por ello, se concluyó que el aceite esencial de lima fue efectivo en condiciones de laboratorio, pero no presentó la misma eficacia en la formulación del pan utilizada en el estudio.

c) Según, Malathy, Periyar Selvam, Sadiku, (2023) "evaluó la calidad y vida útil del pan de pita utilizando aceite esencial de clavo (CEO) en diversas concentraciones": 7.5 µL (S1), 10 µL (S2), y 15 µL (S3), y en comparación con el control (S0) sin aceite de clavo. Se examinaron los efectos sobre el perfil sensorial, las propiedades fisicoquímicas y las

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

características microbiológicas del pan de pita tratado y no tratado con aceite esencial (AE). Basado en el in vitro análisis, la concentración de CEO se fijó en 7 µL/placa para *Rhizopus* sexualis var. americanoy 5µl/ placa para Aspergillus *foetidus*, respectivamente. Se empleó cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) para examinar los componentes químicos del CEO; los componentes principales fueron eugenol (84,37 %) y cariofileno (7,649 %). Según los hallazgos, CEO 15 µL (S3) aumentó la vida útil del pan de pita hasta 6 días, en comparación con el control (S0) fue sólo de 3 días. La media de los parámetros fisicoquímicos y sensoriales y el análisis proximal de las muestras de pan de pita no difirieron significativamente. Además, las esporas de hongos fueron inoculados artificialmente en todas las muestras de pan pita (S0 a S3), mostrando supresión del crecimiento fúngico en (S3) pan de pita en comparación con el control (S0) y otras concentraciones. En conclusión, el aceite esencial de clavo puede ser una alternativa natural muy eficaz, sostenible y prometedora a los inhibidores químicos para prolongar la vida útil del pan de pita.

d) Al igual que Cisarova, 2019. En su investigación del "efecto in vitro e in situ de aceites esenciales seleccionados en fase de vapor contra el *Aspergilli* toxicogénico que deteriora el pan". Donde los resultados obtenidos contra las cepas de hongos probadas fueron el de hierba de limón (15,625 µL/L de aire), seguido del aceite de clavo (31,25 µL/L de aire), ambos para todas las cepas probadas. La cepa más sensible fue A. *flavus* (AF-SLO-B-201) con los mejores valores de MID (dosis inhibidora mínima) después de 14 días de cultivo para AE de limoncillo + canela (15.625 µL/L de aire) > tomillo + orégano + clavo (31.25 µL/L de aire).

e) Asimismo, Flores Tique, 2017. Evaluó la "efectividad antifúngica del aceite esencial de orégano (Origanum vulgare) aplicado en el pan molde en concentraciones 1 %, 1.5 % y 2 % microencapsulado y pulverizado". Donde los resultados fueron: actividad del agua de 0.161, humedad de 6.10 %, la densidad aparente de 0.370 g/mL y la eficiencia del efecto antifungico del aceite esencial de orégano microencapsulado de 96.39 % considerando los parámetros establecidos por la Norma, los tres tratamientos tienen una vida útil de 19 días, pero el tratamiento con 1 % de microencapsulado es el que manifiesta mayor efecto antimicrobiano en el pan de molde.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

f) Como señala Silveiraet al., 2025, evaluó el "proceso de elaboración del pan de molde con la incorporación de aceites esenciales en la masa" en las concentraciones 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 240, 280, 320, 360 y 400 µL de aceites esenciales, también utilizando las mismas concentraciones para microdilución. método de caldo en placas de microtitulación de 96 pocillos. Secuencialmente, 100 µL de medio PDA acidificado. Donde el proceso de elaboración del pan de molde con la incorporación de aceites esenciales en la masa, fue horneado a temperaturas 180±5◦C durante 25±2 min. Después de hornear, los panes fueron enfriados durante unos 90 minutos, se envasó en envases de LDPE y se almacenó a temperatura ambiente durante 7 días. Durante el período de almacenamiento, la dosis diaria. La temperatura media osciló entre 20.8 y 22.9 °C, la diaria humedad relativa media entre 68.2 y 76.2 %.

g) En el trabajo de investigación por lukacon Pam, 2020. Evaluó el "efecto de los aceites esenciales sobre el perfil sensorial del pan". En este estudio, los aceites esenciales (AE), a saber: tomillo, clavo, lavanda, orégano, canela, romero y limoncillo se probaron frente a cuatro cepas de Aspergillus flavus, Aspergillus parasiticus Aspergillus ochraceus yAspergillus westerdijkiae aislado de muestras de pan. Se utilizó el mismo método para detectar la producción de micotoxinas después de los tratamientos con AE en ambos,in vitro (después del tratamiento de la cepa fúngica con una concentración de 500 µL/L de aire) y en el lugar (después del tratamiento de la cepa fúngica en muestras de pan con un rango de concentración de 500 a 125 µL/L de aire). Las colonias en crecimiento inoculadas en la superficie de las muestras de pan se utilizaron para análisis del efecto antitoxicógeno de los AE por hongos probados después de 14 días. La inhibición de la producción de micotoxinas se expresó en porcentaje (%) sobre el control. El efecto antitoxicógeno se determinó únicamente con tratamientos con aceites esenciales, que no inhibieron completamente el crecimiento de las cepas probadas en in vitro y en el lugar ensayos.

3.2 Marco teórico

3.2.1 Generalidades

3.2.1.1 Naranja

El naranjo dulce (*Citrus sinensis*) es una especie originaria del sudeste asiático, particularmente del archipiélago malayo y del sur de China. En el

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Perú, constituye uno de los cultivos cítricos más importantes, destacando los valles de Satipo y Chanchamayo como las principales zonas de producción. En la provincia de Chanchamayo, aproximadamente el 90 % de la producción corresponde a la variedad Valencia y el 10 % a variedades criollas. La naranja, fruto del naranjo dulce, es ampliamente consumida a nivel mundial debido a sus características nutricionales y organolépticas. Esta especie pertenece a la familia Rutaceae, la cual comprende más de 1600 especies, siendo el género *Citrus* el más representativo, con alrededor de 20 especies de importancia alimentaria y comercial" Saldaña, Paseli, 2015.

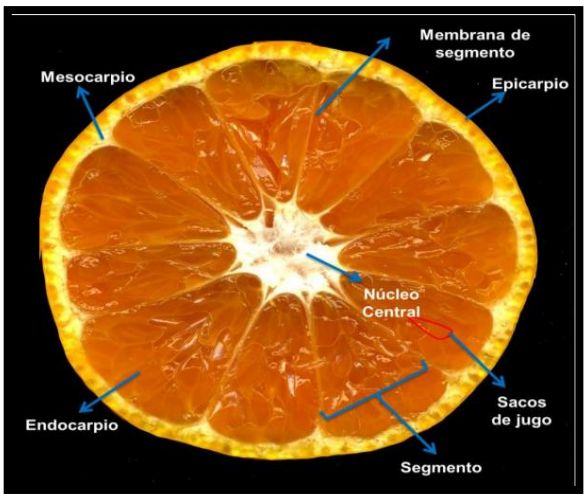
Tabla 3 — Clasificación botánica de naranja (*citrus sinensis*).

Clasificación botánica de naranja (*citrus sinensis*)	
Reino	plantae
División	Magnoliophyta (Angiospermas)
Clase	Magnoliopsida (Dicotiledoneas)
Orden	Sapindales
Familia	Rutaceas
Subfamilia	Aurantioideas
Genero	Citrus
Especie	C*itrus sinensis*
FUENTE: Pérez, 2000.	

a) Anatomía y componentes del fruto

Para comprender mejor la estructura de la naranja, se considera la descripción realizada por Ruiz y Saavedra, 2007. Quienes señalan que, al efectuar un corte transversal del fruto, se distinguen tres regiones principales: epicarpio, mesocarpio y endocarpio. El epicarpio, también denominado flavedo, se localiza debajo de la epidermis y está constituido por una capa parenquimatosa rica en cloroplastos. Además, contiene numerosos sacos secretores donde se acumulan los aceites esenciales característicos de los cítricos.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú



FUENTE**:** Saldaña Paseli, 2015.
Figura 1— Corte transversal de la naranja

b) Composición química de la cáscara de naranja dulce

Tabla 4 — Componentes y porcentajes de la cáscara de naranja dulce

Grupo de compuestos	Principales componentes
Aceites esenciales	Limoneno, mirceno, α-pineno, β-pineno, linalool y citral
Compuestos fenólicos	Flavonoides
Pigmentos naturales	Carotenoides
Polisacáridos	Pectina
Componentes nutricionales	Fibra dietética y vitamina C
FUENTE: Pérez, 2000**.**	

3.2.1.2 Aceite esencial

Los aceites esenciales son metabolitos secundarios de origen vegetal que se distinguen por su alta volatilidad y por aportar el aroma característico de las plantas. Estos compuestos se sintetizan en estructuras especializadas y se acumulan en diferentes órganos vegetales. Están constituidos por una mezcla compleja de sustancias químicas, principalmente terpenos y sus derivados. Físicamente, suelen presentarse como líquidos transparentes o ligeramente

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

coloreados, con fragancias intensas y distintivas. Además, poseen baja densidad en comparación con el agua y muestran afinidad por solventes orgánicos, lo que facilita su extracción y aplicación en diversos campos, como la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética Segura, 2018.

3.2.1.3 Extracción de aceite esenciales

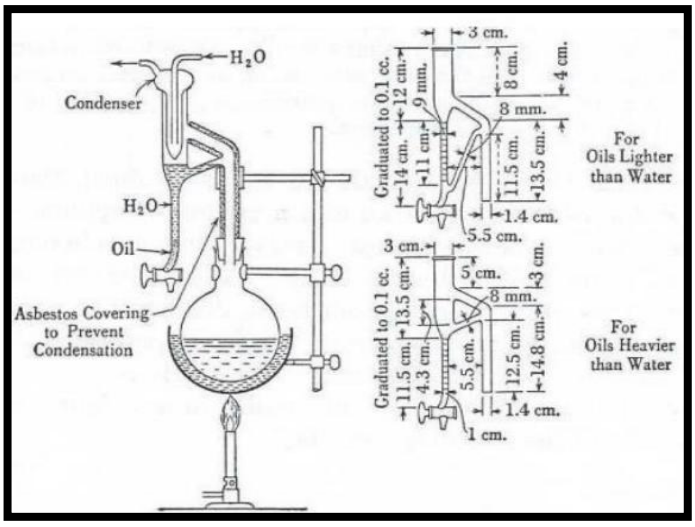
La selección del método de extracción de aceites esenciales está determinada por factores como la naturaleza de la materia prima, la cantidad y los compuestos aromáticos, su grado de volatilidad y la calidad requerida del producto final. Estos aceites pueden obtenerse mediante diversas técnicas de extracción; sin embargo, la destilación por arrastre de vapor es la más utilizada a nivel industrial debido a su eficiencia para recuperar compuestos volátiles y conservar sus propiedades. Tique, 2017.

a) Destilación por arrastre de vapor

El proceso de destilación de vapor en la vaporera se utiliza para ajustar el calentamiento homogéneo facilita la obtención del aceite esencial y ayuda a conservar sus propiedades químicas y aromáticas. Se utiliza directa y indirecta destilación al vapor, utilizando un alambique, condensador y separador para orientar el flujo de gas y agua. En el ámbito de laboratorio, una de las técnicas más utilizadas para la obtención de aceites esenciales es la extracción mediante el equipo de clevenger, considerado el método más adecuado para extraer aceites esenciales de plantas aromáticas.

Consiste en un matraz redondo la materia prima vegetal se combinaba con agua y se sometía a una fuente de calor. Como resultado, los compuestos volátiles del aceite esencial se desprenden y son transportados por el vapor generado durante el proceso. Utilizando un condensador conectado al matraz y una conexión, los aceites esenciales se recogen y separan de la mezcla condensad Saldaña Paseli, 2015.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú



FUENTE: Diaz, 2005.

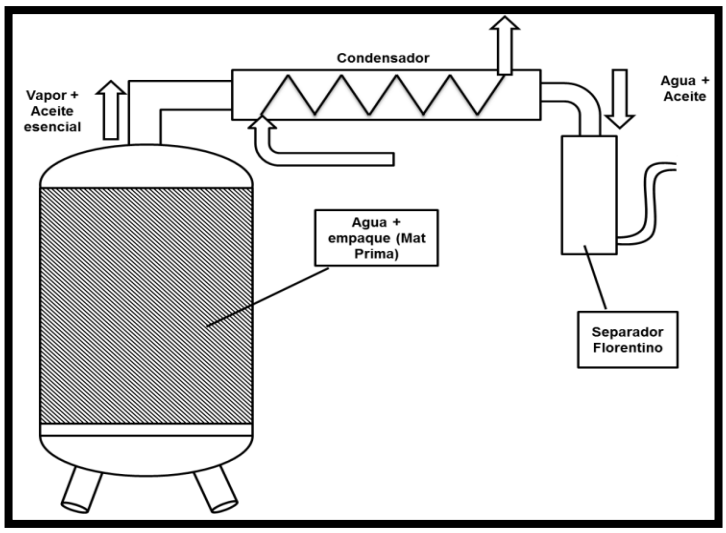
Figura 2 — Destilación por arrastre en corriente a vapor

b) Hidrodestilación

La extracción por hidrodestilación constituye una de las técnicas más antiguas empleadas para obtener aceites esenciales y sigue siendo ampliamente utilizada por su practicidad y rendimiento. Este procedimiento consiste en mantener la materia vegetal en contacto directo con agua durante la operación de extracción. Bajo la acción del calor, los compuestos aromáticos contenidos en los tejidos vegetales son liberados y arrastrados por el vapor de agua. La recuperación de estos compuestos depende principalmente de sus propiedades fisicoquímicas, como la solubilidad y la velocidad de transferencia.

En general, las sustancias oxigenadas tienden a extraerse con mayor facilidad que los hidrocarburos debido a su mayor capacidad de dispersión en el medio. El equipo utilizado para este proceso suele estar integrado por una caldera o alambique, un sistema de enfriamiento para la condensación y un separador donde se recupera el aceite esencial obtenido Saldaña, Paseli (2015).

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

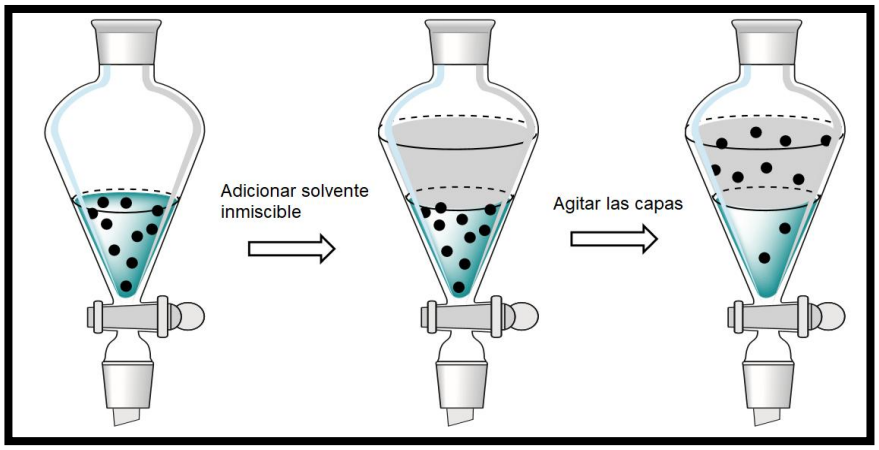


FUENTE**:** Saldaña, Paseli 2015.

Figura 3 — Equipo de hidrodestilación

c) Extracción por solvente

La técnica de extracción con disolventes orgánicos se basa en la capacidad de ciertos líquidos para separar y recuperar los compuestos presentes en el material vegetal previamente seco y pulverizado. Durante el proceso, las sustancias de interés son transferidas al solvente debido a su afinidad química. Posteriormente, el agente extractor se elimina mediante evaporación controlada o destilación a presión reducida, permitiendo obtener el extracto aromático. Finalmente, se realiza una etapa de refinamiento para mejorar la pureza del producto obtenido. Entre los disolventes más empleados se encuentran el etanol, hexano, cloroformo, benceno y éter etílico Maravi, 2012.



FUENTE: Quiroz, 2013**.**

Figura 4 — Extracción por solvente orgánico

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

d) Extracción por prensado al frío

La extracción por prensado en frío corresponde a un procedimiento físico que permite obtener aceites esenciales sin recurrir a procesos de calentamiento intenso, tratamientos químicos o etapas de refinación. Esta metodología favorece la conservación de los atributos aromáticos y de los compuestos de interés biológico presentes en la materia prima. El proceso se realiza mediante la compresión mecánica del material vegetal utilizando equipos especializados, lo que posibilita la liberación del aceite contenido en los tejidos. Para preservar la calidad del producto obtenido, es fundamental evitar que la temperatura alcance niveles elevados durante la extracción. Este sistema es ampliamente utilizado en la obtención de aceites esenciales provenientes de frutos cítricos, como naranja, limón, lima, toronja y bergamota, debido a su capacidad para recuperar grandes cantidades de aceite manteniendo sus características naturales Castellanos, 2020.



FUENTE: Castellanos, 2020**.**

Figura 5 — Prensado en frío

3.2.1.4 Composición del aceite esencial

Los aceites esenciales están formados por compuestos de naturaleza hidrofóbica y lipofílica, por lo que presentan afinidad por las grasas y los solventes orgánicos. Además, poseen una densidad generalmente inferior a la del agua. Su composición química es compleja y puede incluir entre 20 y 60 sustancias diferentes; sin embargo, solo unos pocos componentes se

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

encuentran en mayor proporción y son los principales responsables de sus propiedades biológicas y funcionales Castellanos, 2020.

Según Pérez, 2000. El aroma de las frutas se debe principalmente a compuestos oxigenados, como ésteres, alcoholes, aldehídos, cetonas y ácidos, los cuales derivan en gran medida de los terpenos y otros compuestos orgánicos simples.

Tabla 5 — Principales constituyentes del aceite de la cáscara de cítricos

Monoterpenos	Ácidos	Aldehídos
• α-Pineno	• Acético	• Acetaldehído
• β- -Pineno	• Cáprico	• Citral
• α -Terpineno	• Caprílico	• Decanal
• Y-Terpineno	• Decílico	• Geranial
• d-Limoneno	• Fórmico	• Octanal
• Mirceno	• Octílico	• Esteres
• p.Cimeno	• Alcoholes	• Acet. de geranilo
• Terpinoleno	• Citronelal	• Acet. de Linalilo
• Sabineno	• Geraniol	• Antran. de Metilo
• Canfeno	• Linalol	• Acetato de Octilo
• Sesquiterpenos	• Nonano	
• Bisaboleno	• Octanol	
• Cadineno	• α -T erpineol	
• Cariofileno	• Terpinen-4-01	

FUENTE: Castellanos, 2020.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

3.2.1.5 Características del aceite esencial de cáscara de naranja

a) Características físico químicas

En la Tabla 6, se presenta las características fisico-químicas del aceite esencial de naranja

Tabla 6 — Características fisico-químicas de un buen aceite esencial según la farmacopea de EE.UU y Francia

Componentes	Características
Color	Amarillento
Densidad	No menor de 0,842 ni mayor de 0,8460
Índice de Refracción	No menor de 1,4723 ni mayor de 1,4737 a 20ºC
Residuos de evaporación	No menor de 1% ni mayor de 4%
FUENTE: Pérez, 2000.	

3.2.1.6 Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales

En general, las especias atacan mejor a las bacterias grampositivas que a las bacterias gramnegativas. Esto podría deberse a que las bacterias gramnegativas tienen membranas externas en sus paredes celulares, son lipófilas y pueden interactuar con las especias. La membrana externa de las bacterias gramnegativas *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* puede ser degradada por carvacrol, eugenol y timol Tique, 2017.

Se ha descubierto que los aceites esenciales de plantas y especias tienen propiedades antibacterianas. Estos efectos están relacionados con los componentes químicos presentes; la mayoría de los estudios han demostrado que el AE es eficaz contra una amplia gama de bacterias Gram (+) y Gram (-), así como los monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos presentes en el AE podrían ser los compuestos responsables de sus propiedades antibacterianas, antioxidantes y aromáticas del AE Seguro, 2018.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

3.2.1.7 Actividad antifúngica de los aceites esenciales

Diversos estudios científicos han demostrado que la actividad antifúngica del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) se refiere a la capacidad que poseen sus compuestos bioactivos, principalmente el limoneno, para inhibir o reducir el crecimiento y desarrollo de hongos y mohos. Esta acción contribuye a prolongar la vida útil de los alimentos y a disminuir el deterioro microbiológico, actuando como una alternativa natural a los conservantes químicos. Tique, 2017.

3.2.1.8 Evaluaciones antifúngicas in vitro de AE y componentes activos

La actividad antifúngica de los aceites esenciales (AE) y de sus compuestos puede evaluarse mediante diversos métodos, entre los que destacan la difusión en agar, la difusión en disco y el uso de placas de Petri invertidas.

La presencia de halos o zonas de inhibición alrededor del disco o pocillo que contiene el aceite esencial indica su capacidad para inhibir el crecimiento de los hongos. Los métodos de difusión son los más utilizados, representando aproximadamente el 50 % de las pruebas realizadas. Por otro lado, las técnicas de dilución en agar, dilución en caldo y el método de intoxicación alimentaria también son empleadas para determinar la actividad antifúngica. Estas metodologías consisten en incorporar diferentes concentraciones de aceite esencial en medios de cultivo y evaluar el crecimiento radial de los hongos durante el periodo de incubación. Además, permiten analizar simultáneamente varios microorganismos y determinar con precisión el efecto inhibidor de los aceites esenciales sobre su desarrollo Debonne et al., 2018.

3.2.1.9 Aplicación de los aceites esenciales

Actualmente se han analizado más de 3000 aceites esenciales de una variedad de especies vegetales. Más de 200 de estos aceites esenciales son muy valiosos y se utilizan ampliamente en una variedad de industrias, incluidas las alimentarias, cosméticas, farmacéuticas y otras. Se utilizan para agregar sabor y aroma a café, té, vino y otras bebidas espirituosas. Son componentes cruciales para las industrias de jabones y perfumes. Tanto por su sabor como por sus propiedades analgésicas, son de gran importancia en medicina. A

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

medida que los aceites esenciales se vuelven más fáciles de usar en procesos industriales, se espera que el mercado de estos aceites crezca en los próximos años. Además, estos aceites mejoran la concentración, la estabilidad y la calidad microbiana, lo que compensa o iguala su mayor concentración Saldaña, Paseli 2015.

En la Tabla 7 se muestra los principales aceites esenciales empleados según industria y segmentos en Europa, las industrias de cosméticos emplean principalmente el aceite de limón y naranja. Por su parte la industria alimenticiaelabora sus productos con aceites cítricos y en algunos casos aceites florales.

Tabla 7 — Aceites esenciales en Europa según industria y segmento

Área de aplicación	Uso principal
Industria alimentaria	Conservantes naturales, saborizantes y aromatizantes en alimentos y bebidas.
Industria farmacéutica	Elaboración de productos con propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y terapéuticas.
Cosmética y perfumería	Producción de perfumes, cremas, jabones, champús y productos de cuidado personal.
Agricultura	Control de plagas y enfermedades como alternativa a productos químicos sintéticos.
Aromaterapia	Promoción del bienestar físico y emocional mediante la inhalación de aromas.
Industria de limpieza	Formulación de desinfectantes y productos de higiene con actividad antimicrobiana.
Conservación de alimentos	Inhibición del crecimiento de bacterias, levaduras y mohos, prolongando la vida útil de los productos.
FUENTE: Saldaña, Paseli, 2015.	

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

3.2.2. Generalidades del pan de molde

3.2.2.1 Características del pan de molde

De acuerdo con la Norma Técnica Peruana (NTP 206.004), el pan de molde es un producto de panificación elaborado mediante la cocción de una masa fermentada en recipientes o moldes especiales. Su formulación básica incluye harina de trigo con un grado de extracción no mayor al 82 %, agua apta para consumo humano, sal, azúcar, levadura y materia grasa. Además, puede incorporar otros ingredientes y aditivos autorizados por la normativa vigente para mejorar sus características de calidad y conservación.

Este tipo de pan de molde es ampliamente consumido debido a su practicidad, sabor y versatilidad en la preparación de diversos alimentos. Asimismo, posee un alto contenido de carbohidrato, convirtiéndose en una importante fuente de energía en la alimentación diaria.

Es uno de los alimentos que más se consume en el mundo ya que su proceso de elaboración en el momento que es fermentado produce un sabor y textura muy especial, además que es un alimento que contiene casi todos los nutrientes como son: carbohidratos, proteínas, grasas, vitaminas y minerales. (Tabla 8)

Tabla 8 — Composición química del pan de molde

composición quimica del pan de molde (por 100g de porción comestible)			
Agua	20.8g	**Hierro**	0.4 mg
Proteina	6.8g	**Fosforo**	60 mg
Grasa	2.5g	**Tiamina**	0.08 mg
Carbohidratos	69.2g	**Riboflavina**	0.16 mg
Ceniza	0.7g	**Niacina**	1.22 mg
Calcio	13mg	**Energia**	332 Kcal
FUENTE: Saldaña, Paseli 2015.			

El pan de molde es un tipo de pan que se caracteriza por una textura muy ligera y aireada. Tiende a permanecer blando por mucho más tiempo que otros panes. Así mismo posee un mayor contenido en grasas que el pan normal porque, a diferencia de este último, suele contener mantequilla u otras grasas.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

El pan de molde existe en muchas variedades: blanco, integral, sin corteza, sin semillas, etc., Hernández (2011).

3.2.2.2 Deterioro microbiológico del pan de molde

Debido a que proporciona las condiciones ideales para el crecimiento de microorganismos (principalmente moho), particularmente la humedad y el porcentaje de actividad del agua, sus valores son del 38 % y 0.98 respectivamente, el pan de molde es un producto perecedero.

La superficie del pan puede presentar crecimiento de mohos pertenecientes a diversos géneros, entre los que destacan *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Fusarium* y *Mucor*. Entre ellos, *Aspergillus* y *Penicillium sp.* son considerados los principales microorganismos responsables del deterioro microbiológico del pan de molde. Asimismo, el desarrollo de estos mohos puede identificarse por la coloración característica que presentan sobre la superficie del producto; por ejemplo, *Rhizopus* y *Mucor* suelen presentar tonalidades negras, mientras que *Aspergillus* y *Penicillium sp.* muestran coloraciones verdosas.

Debido a que las esporas son abundantes y están presentes en el medio ambiente, el crecimiento de *Penicillium sp.* es dominante. La temperatura de proliferación de *Penicillium sp.* es de 7 a 10 °C, mientras que la temperatura de proliferación de *Aspergillus* es de 22 a 24 ºC Belen, y otros 2017.

a) Vida útil del pan de molde

Se refiere el tiempo en el que puede consumirse y sus características organolépticas (sabor, aroma, color, textura) y químicas y microbiológicas son aceptables para el consumidor. Además, incluyen el período de tiempo que transcurre entre la fabricación y el momento en que el alimento sufre cambios que lo hacen inapropriado para consumir. La formulación, el producto, el procedimiento, la forma de empaque y las condiciones de almacenamiento de un alimento deben tenerse en cuenta para evaluar su vida útil Belen, y otros, 2017.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

El pan de molde elaborado sin usar conservantes o tecnología de barreras como atmosfera modificada, congelación o pasteurización mantiene su calidad durante cinco días, manteniendo durante ese periodo sus características de calidad Belen, y otros 2017.

3.2.2.3 Aditivos para prevenir el crecimiento microbiano en el pan de molde

La industria de panificación requiere conservantes en la elaboración de sus productos con el fin de extender su vida útil y mantener su calidad durante el almacenamiento. Estos aditivos contribuyen a inhibir o retardar el desarrollo de microorganismos que pueden causar deterioro. Debido a que el pan de molde presenta una vida útil limitada, es necesario implementar estrategias de conservación que permitan garantizar su comercialización dentro del periodo establecido y reducir las pérdidas económicas asociadas al vencimiento del producto. Belen, y otros, 2017.

Hay dos propósitos principales para proteger a los alimentos del ataque de los microorganismos: uno es prevenir su deterioro y el otro, la transmisión de enfermedades Portillo, 2005. La conservación de los alimentos está basada, principalmente, en la prevención o retardo del crecimiento microbiano. Para lograrla, deben de tomarse en cuenta aquéllos factores que influyen más efectivamente en el crecimiento y sobrevivencia de los microorganismos.

a) Conservantes naturales

Los aceites esenciales son el grupo de compuestos que producen el olor, el aroma y el sabor de las especias, y generalmente son solubles en etanol. Se han utilizado recientemente como antifungicos tanto en medicina como en alimentos. Cutter, 2000.

Contiene compuestos fenólicos, a los que se les atribuyen propiedades antimicrobianas, y se ha demostrado que factores como la temperatura, el contenido de grasa, el contenido de proteína y la concentración de sal, entre otros, pueden afectar la actividad microbiana de estos aceites esenciales dependiendo de las variedades de la planta, las condiciones climáticas y otros factores.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

b) Conservantes sintéticos

Los conservantes sintéticos son sustancias químicos elaboradas industrialmente y añadidas a alimentos, cosméticos o productos farmacéuticas para evitar el crecimiento de microorganismos, retrasar la oxidación y prolongar la vida útil del producto. Sintéticos más utilizados se encuentran; benzoato de sodio, sorbato de potasio, nitritos, propionato de calcio, antimohos.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), los aditivos alimentarios incluidos los conservantes sintéticos son sustancias añadidas intencionalmente a los productos para cumplir funciones tecnológicas como conservación y seguridad alimentaria.

También, la Food and Drug Administration (FDA), define los conservantes químicos como sustancias que previenen el deterioro causado por bacterias, hongos, levaduras o reacciones químicas.

3.2.2.4 Características sensoriales del pan de molde

De acuerdo a las NTP 206.004: " El pan de molde, dependiendo de la harina utilizada, debe tener una miga esponjosa sin manchas de almidón y de color uniforme; y no debe quedar pegajoso ni quebradizo. Los productos deben ser iguales en tamaño, forma, volumen y apariencia. "

Cada trozo de pan de molde debe tener la forma de un cubo simétrico con bordes ligeramente redondeados y una ondulación en la parte superior. La superficie exterior y la corteza deben ser ligeramente brillantes, de un color dorado uniforme y sin manchas ni rayas en ningún lado excepto en las cerdas. La corteza debe quedar suave y sin defectos. Si se corta el producto en piezas, el grosor de las piezas debe ser el mismo.

Las migas se caracterizan por ser uniformes, blancas, cremas o amarillentas y sin vetas, manchas o decoloraciones. La granulación debe alcanzar que las células de la miga sean homogéneas y pequeñas. La superficie de la miga no

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

debe tener grietas. Debe tener un aroma distintivo y agradable característico que no debe ser ácido.

3.2.2.5 Características fisicoquímicos del pan de molde

El pan de molde debe cumplir con las especificaciones anotadas en el Tabla 9 según lo descrito en la NTP 206.004

Tabla 9 — Especificaciones fisicoquímicas del pan de molde

Especificaciones	Mínimo	Máximo
Humedad en %	--	40
Ceniza en %	--	2.5
Proteina (Nx5.7) en %	7	--
Grasa en %	0.8	4
Fibra cruda en %	0.2	0.4
pH	4.5	6.5
FUENTE: NTP, 2010.		

3.2.2.6. Características Microbiológicas de pan de molde

Los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad que deben cumplir las harinas y similares, así como los productos de panificación, galletería y pastelería, son los siguientes, pudiendo la autoridad sanitaria exigir criterios adicionales debidamente sustentados para la protección de la salud de las personas, con fines epidemiológicos, de rastreabilidad, de prevención y ante emergencias o alertas sanitarias:

Para otros alimentos que intervienen como ingredientes o insumos en la elaboración de los productos de panificación, galletería y pastelería, la norma sanitaria que aplica es la Norma Técnica de Salud “NTS Nº 071-MINSA/ DIGESA. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano” aprobada mediante Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Tabla 10 — Criterios Microbiológicas para productos de panadería

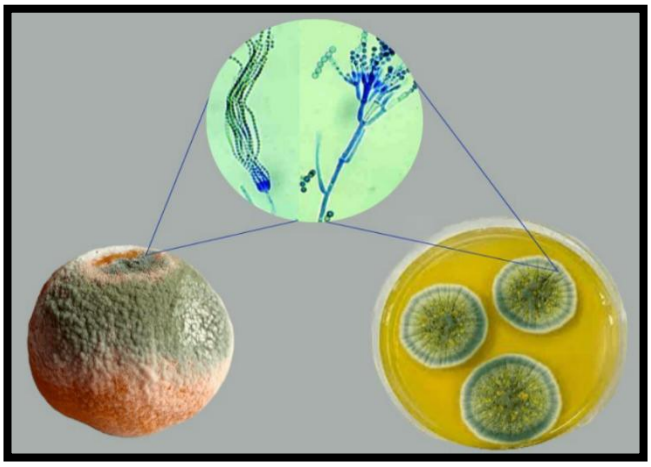
Productos de panadería, pastelería y galletería						
Productos de panadería y pastelería con o sin relleno y/o cobertura que no requieran refrigeración (pan, galletas y panes enriquecidos o fortificados, tostadas, bizcochos, panetón, queques, galletas, obleas, otros)						
Agente microbiano	categoría	clase	n	c	Limites por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10^1	10^3
Escherichia coli (*)	6	3	5	1	3	20
Staphylococcus aureus (*)	8	3	5	1	10	10^2
Clostridium perfringes (**)	8	3	5	1	10	10^2
Salmonella sp. (*)	10	2	5	0	Aus./25g	…
(*) Para productos con relleno.						
(**)Adicionalmente para productos con relleno de carne y/o vegetales.						
FUENTE: MINSA, 2016.						

a) Penicillum sp.

El primer hongo en identificarse durante la primera fase fue el *penicillum sp*. La colonia presentaba un color verde claro con un halo blanco, el cual indicaba que esa región había sido colonizada recientemente.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Al realizarse la observación por el microscopio se pudo observar la presencia de hifas hialinas, que terminaban en conidióforos los cuales a su vez poseían varias fialides, las cuales poseían cadenas de microconidias. *Penicillium sp* es un hongo filamentoso perteneciente al género *Penicillium*, asociado principalmente al deterioro de cereales almacenados y productos alimenticios Mahantesh, 2021.



FUENTE: Mahantesh, 2021.

Figura 6 — *Penicillium sp.*

b) Rhizopus Spp

Rhizopus es un género de hongos filamentosos y saprófitos pertenecientes al filo *Mucoromycota*. Son conocidos popularmente como los responsables del moho negro del pan y de la descomposición de frutas y vegetales. Tienen una distribución cosmopolita y habitan comúnmente en el suelo, polvo, materia orgánica muerta y alimentos almacenados.

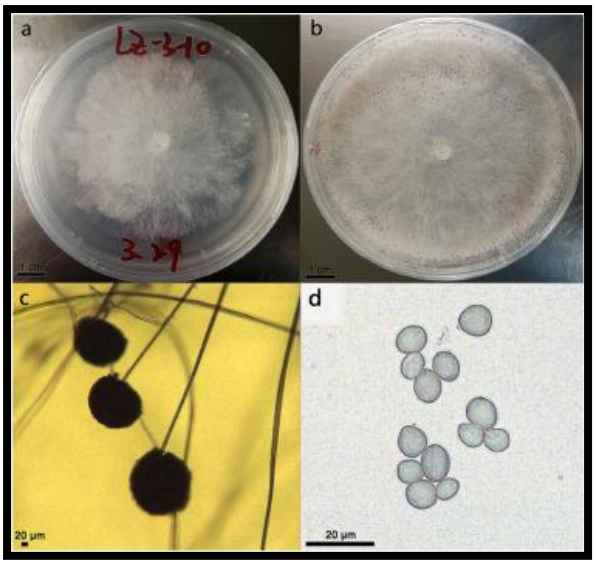
- **Hifas cenocíticas:** Filamentos anchos, transparentes (hialinos) y carentes de tabiques o septos divisorios.

- **Rizoides:** Estructuras similares a raíces que fijan el hongo al sustrato y absorben nutrientes.

- **Estolones:** Hifas aéreas arqueadas que conectan los diferentes grupos de rizoides.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Aunque generalmente actúa como un contaminante ambiental inofensivo, sus esporas flotan en el aire y pueden desencadenar reacciones alérgicas o problemas respiratorios. En personas con diabetes no controlada o sistemas inmunitarios deprimidos, puede causar *mucormicosis angioinvasiva*. Esta enfermedad ataca los senos paranasales, pulmones y cerebro, provocando trombosis y necrosis tisular severa Mahantesh, 2021.



FUENTE: Mahantesh, 2021.

Figura 7 — ***Rhizopus Spp.***

3.3 Marco conceptual

a) Compuestos alifáticos: Los hidrocarburos son compuestos formados por carbono e hidrógeno, derivados del petróleo o gas natural. Los hidrocarburos alifáticos se emplean frecuentemente como solventes para la disolución de aceites, grasas y resinas Abrego, 2011.

b) Compuestos volátiles: La EPA (Agencia de Protección Ambiental) los compuestos orgánicos volátiles (COV) son sustancias orgánicas que se volatilizan fácilmente a temperatura ambiente. El metano no suele considerarse un COV debido a su baja reactividad fotoquímica y escasa toxicidad.

c) Aplicación: La aplicación se entiende como el uso o implementación de un método, sustancia o procedimiento con el fin de alcanzar un objetivo determinado o generar un efecto específico sobre un producto, proceso o sistema.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

d) In-vitro: Los estudios **in vitro** son aquellos que se desarrollan en ambientes artificiales y controlados de laboratorio, permitiendo evaluar el comportamiento de microorganismos, células o compuestos sin la intervención directa de un organismo vivo.

e) Antimicrobiano: El aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) presenta actividad antimicrobiana debido a sus compuestos bioactivos, principalmente el limoneno, los cuales contribuyen a inhibir el crecimiento de microorganismos y mejorar la conservación del pan de molde.

f) Antifungico: El término "antifúngico" se refiere a la capacidad de una sustancia para prevenir, reducir o inhibir el crecimiento de hongos y mohos. En esta investigación, el aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) actuó como agente antifúngico al inhibir el desarrollo de *Penicillium sp.* y *Rhizopus sp*. en el pan de molde.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

CAPÍTULO IV
METODOLOGÍA

4.1 Tipo y nivel de investigación

El presente trabajo de investigación, de acuerdo a la naturaleza de datos será de enfoque cuantitativo de tipo de un diseño experimental con nivel de investigación explicativo y descriptivo ya que se basa en la manipulación de las variables independientes como el porcentaje del aceite esencial aplicado como el efecto antifúngico en el pan de molde en los cuales se realiza los análisis microbiológicos, fisicoquímicos y sensoriales. En función al ambiente del trabajo será de laboratorio.

4.2 Diseño de la investigación

Se utilizó el Diseño Completamente al Azar **(DCA)**, con 3 niveles en concentraciones (0.1%, 0.3% y 0.5%) AEN y 2 microorganismos (*Penicillium sp.* y *Rhizopus sp.*) incluido control 0% sin AEN para cada uno por separado. Se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) para corroborar si existen diferencias entre las medias de los distintos tratamientos mediante Tukey para encontrar los mejores tratamientos, para cada etapa.

Tabla 11—Diseño para la aplicación in vitro

microorganismos	Porcentaje	combinación	tratamientos
• **R*hizopus* sp.**	0.1 % =1 0.3 % =2 0.5 %=3	A,1 A,2 A,3	T1 T2 T3
• **P*enicillium* sp.**	0.1 % =1 0.3 % =2 0.5 %=3	B,1 B,2 B,3	T1 T2 T3
• **Control**	0 %	C	C
NOTA			

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Los porcentajes de AEN se aplicó por separado para cada microorganismo, Penicillium sp. (0.1 %, 0.3 % y 0.5 %) Rhizopus sp. (0.1 %, 0.3 % y 0.5 %).

Para la segunda etapa de la aplicación se utilizó el Diseño Completamente al Azar **(DCA)**, con 2 factores: método de aplicación directa (adición de aceite en la masa) y método de aplicación spray con 3 niveles las concentraciones de aceite esencial de las variables independientes) 0.5 mL, 1 mLy 2 mL incluido con el control 0 % sin AEN. Se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) para corroborar si existen diferencias entre las medias de los distintos tratamientos mediante Tukey para encontrar los mejores tratamientos, para cada etapa.

Tabla 12 —Diseño de aplicación en segunda etapa

Aplicaciones	Concentraciones (AEN)	Combinación	Tratamientos
Directa: A	0.5 mL =1	A,1	T1
	1mL=2	A,2	T2
	2mL=3	A,3	T3
Spray: B	0.5mL =1	B,1	T4
	1mL=2	B,2	T5
	2mL=3	B,3	T6
Control	0 %	C	C

4.3 Descripción ética de la investigación

La presente investigación se desarrolló siguiendo el método científico y utilizando información obtenida de fuentes confiables y bases de datos especializadas. Se respetó la propiedad intelectual mediante el uso adecuado de citas y referencias bibliográficas conforme a la norma ISO 690, evitando cualquier forma de plagio. Asimismo, el estudio se ejecutó de acuerdo con las disposiciones y lineamientos establecidos por la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac.

De igual manera, los investigadores actuaron bajo principios éticos fundamentales, como la honestidad, responsabilidad, transparencia e integridad científica. Se garantizó la

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

veracidad de los datos obtenidos, evitando la manipulación o falsificación de resultados. Además, se mantuvo una conducta responsable durante todas las etapas de la investigación, respetando el medio ambiente y asegurando el manejo adecuado y confidencial de la información recopilada.

4.4 Población y muestra

4.4.1 Población

La población de estudio estuvo constituida por el pan de molde elaborado para la investigación, el cual fue utilizado para evaluar el efecto antifúngico del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) durante el periodo de almacenamiento. La población experimental estuvo conformada por panes de molde sometidos a diferentes tratamientos, utilizando concentraciones de 0.5 mL, 1 mL y 2 mL de aceite esencial, aplicadas mediante dos métodos: incorporación directa en la masa y aplicación método spray. Asimismo, se incluyó un tratamiento control para establecer comparaciones entre los diferentes tratamientos evaluados.

4.4.2 Muestra

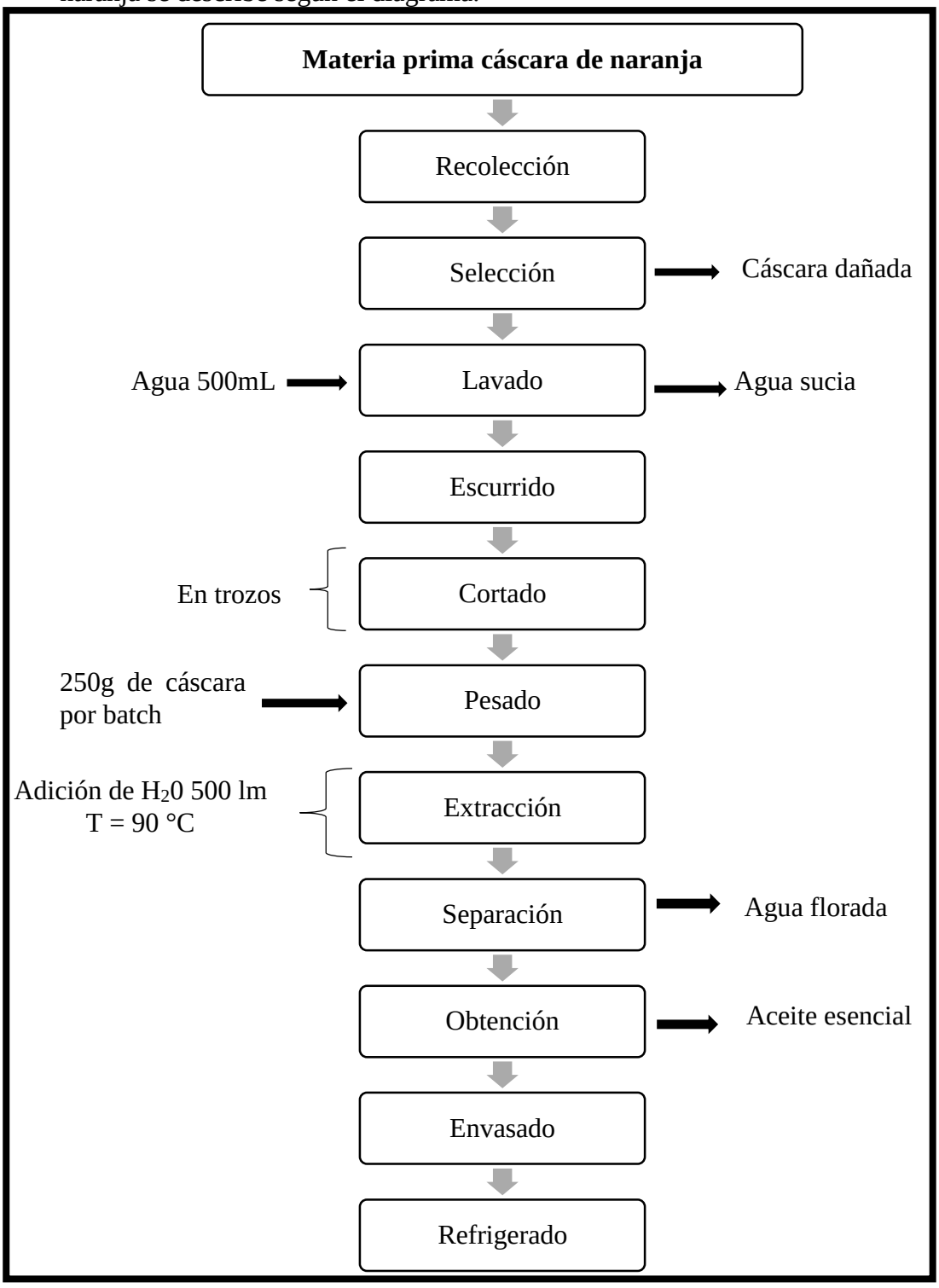
La muestra estuvo conformada por 21 unidades experimentales de pan de molde, distribuidas en 7 tratamientos y 3 repeticiones por tratamiento, las cuales fueron sometidas a análisis microbiológicos, fisicoquímicos y sensoriales para determinar la eficacia antifúngica del aceite esencial de cáscara de naranja. Se utilizaron 600 g de pan de molde para los ensayos experimentales.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

4.5 Procedimiento

4.5.1 Extracción de aceite esencial por el método de arrastre de vapor

El procedimiento para la extracción del aceite esencial a partir de la cáscara de naranja se describe según el diagrama.



FUENTE: Crespo, 2019.

Figura 8 —Diagrama de flujo de extracción de aceite esencial

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

4.5.1.1 Extracción de aceite esencial de cáscara de naranja mediante el método arrastre de vapor clásico

El procedimiento de la extracción del aceite esencial se realizaro de la siguiente manera; según Horna Saldaña, 2015.

- Se recolectaron las cáscaras de naranja en estado fresco y húmedo.
- Posteriormente, se realizó la selección y lavado del material para eliminar impurezas.
- Se pesaron 250 g de cáscara de naranja utilizando una balanza analítica.
- El material pesado fue colocado en el equipo de destilación.
- A continuación, se añadieron 500 mL de agua destilada al sistema de extracción.
- Se ensambló el equipo de destilación, verificando el correcto ajuste de las conexiones para evitar pérdidas de vapor.
- Una vez instalado el sistema, se permitió la circulación continua de agua a través del condensador para favorecer el enfriamiento y la condensación de los vapores.
- Finalizado el proceso de extracción, el aceite esencial obtenido fue recolectado en frascos goteros previamente esterilizados y debidamente rotulados.
- Finalmente, se realizó la limpieza y desinfección de los equipos y materiales utilizados, con el fin de prevenir contaminación cruzada en posteriores extracciones.

4.5.1.2 Fórmula para calcular el rendimiento de extracción:

a) Datos del proceso

Peso de la cáscara de naranja = 250 g

Aceite esencial obtenido = 1 mL

- Aplicación de la fórmula:

$$\text{Rendimiento}=\frac{1\,mL}{250g}\,x\,100 \qquad (1)$$

$$\frac{1}{250}=0.004$$

$$0.004\times100=0.4\ \%$$

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

El rendimiento de extracción fue de 0.4 % por cada 250 g de cáscara de naranja

b) Cálculo del rendimiento total (160 extracciones)

Datos:

- Número de extracciones = 160
- Cáscara utilizada por extracción = 250 g
- Aceite obtenido por extracción = 1 mL

c) Cálculo la materia prima total

$$250\ g \times 160 = 40\,000\ g = 40\ kg$$

d) Cálculo el aceite total obtenido

$$1\ mL \times 160 = 160\ mL$$

e) Aplicación la fórmula

$$Rendimiento = \frac{160mL}{40000g} x100 \qquad (2)$$

$$\frac{160}{40000} = 0.004$$

$$0.004 \text{ x } 100 = 0.4\%$$

Datos finales:

Materia prima procesada: 40 kg

Aceite esencial obtenido: 160 mL

Rendimiento promedio: 0.4 %

4.5.1.3 Método para el cultivo in vitro de hongos contaminantes

Se preparó el medio de cultivo basado en ADS (Agar dextrosa sabouraud) como se describe a continuación según Ruiz, 2005.

a) Siembra y aislamiento de los mohos:

- Para aislamiento de *Penicillium sp* y *Rhizopus sp.* Se emplearon dos muestras pan de molde con crecimiento visibles de mohos.

- Se pesó 10g de cada muestra y se disolvió en 90ml de agua peptonada y se realizaron diluciones secuenciales 10^{-2}

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

- De cada una de las diluciones se procedió a sembrar en la superficie de ADS.

- Dejando en incubación a 25ªC por 3 a 5 días en una incubadora Binder de 50L de capacidad.

- Una vez desarrollado el microorganismo, se realizaron resiembras sucesivas hasta obtener colonias aisladas y libres de contaminación.

4.5.1.4 Identificación de los hongos:

La identificación se realizó mediante las características morfoanatónomicas y claves de identificación según recomendación de Barnett & Barry, 1999. Para la identificación se consideraron varios aspectos como: tipo de micelio, hifas aéreas, disposición de esporas, presencia color de las colonias, forma y color de conidios, fiálides, presencia de clamidosporas. Verificación mediante fotografías de alta resolución, las estructuras vegetativas y reproductivas de los hongos fitopatógenos.

- Durante la caracterización macroscópica, se procedió a registras la velocidad de crecimiento, como el diámetro de la colonia por día, la morfología de la colonia (forma de la colonia): forma, color del micelio aéreo, textura (algodonosa, textura seca, polvorienta) y la coloración de la colonia de ambos lados (el reverso también).

- Para determinar las características microscópicas del micelio del hongo se procedió a preparar en portaobjeto usando reactivos como azul de lactofenol.

- EL primer enfoque al microscopio óptico se realizó al ocular 10x y seguido de 40x. Se procedió a buscar las estructuras reproductivas de los hongos (conidióforos, esporangios, picnidios), la forma y tamaño de las esporas asexuales (conidios), el tipo de hifa (septadas y cenocíticas).

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

a) Identificación microscópica de *Penicillium sp.*

La identificación microscópica del aislamiento fúngico obtenido a partir de las muestras de pan se realizó mediante la técnica de preparación en azul de lactofenol, utilizando microscopio óptico Olympus CX43. Esta tinción permitió visualizar y diferenciar las principales estructuras micromorfológicas del hongo.

Al microscopio óptico, lente 40X se observaron hifas hialinas, septadas y ramificadas, en cuyo extremo se visualizó conidióforos ramificados (Ver Figura 51 Anexo 14). Las ramificaciones estuvieron constituidas por métulas y fiálides, a partir de esta últimas de originaban cadenas de conidios (esporas asexuales). La presencia de estas hifas septadas, conidióforo (estructuras reproductivas), las fiálides y cadenas de conidios dispuestas en forma de un pincel es compatible con las características descritas para el género *Penicillium sp.* Barnett & Barry, 1999.

b) Identificación microscópica de *Rhizopus sp.*

La identificación microscópica del aislamiento fúngico obtenido de las muestras de pan se realizó mediante una preparación con azul de lactofenol y posterior observación mediante microscopía óptica al lente 40X.

- La preparación permitió visualizar las principales estructuras micromorfológicas características del género Rhizopus. Observándose hifas hialinas, anchas y predominantemente cenocíticas (aseptadas), a partir de las cuales se desarrollaron esporangióforos erectos, generalmente no ramificados, que terminaban en estructuras globosas denominadas esporangios.

- En el interior de los esporangios se observaron numerosas esporangiosporas (esporas asexuales), mientras que en la región central se distinguió una columela, estructura que corresponde a la porción terminal del esporangióforo que se proyecta hacia el interior del esporangio.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

- Asimismo, se observaron rizoides asociados a la base de los esporangióforos, característica morfológica relevante para diferenciar *Rhizopus sp*. de otros géneros de Mucorales según Barnett & Barry, 1999.

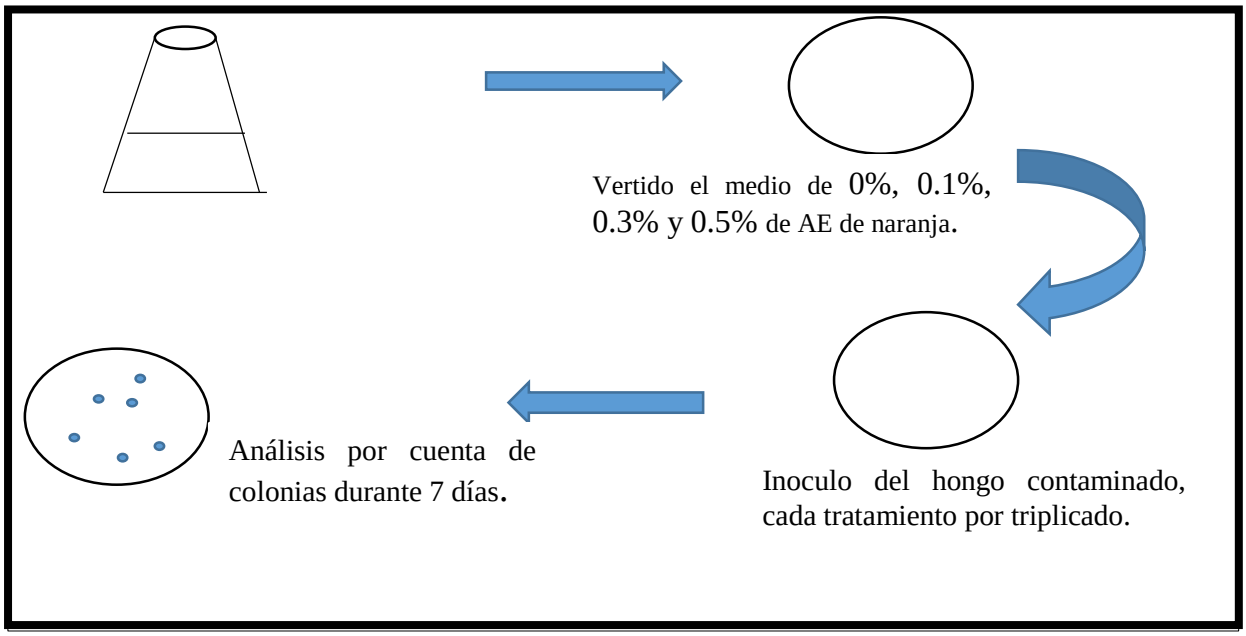


Figura 9 — Evaluación antimicrobiana de aceite esencial de cáscara de naranja contra hongos contaminantes de productos de panadería.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

4.5.2 Elaboración de pan molde con aceite esencial de cáscara de naranja (Citrus sinensis) por método de aplicación directo y spray

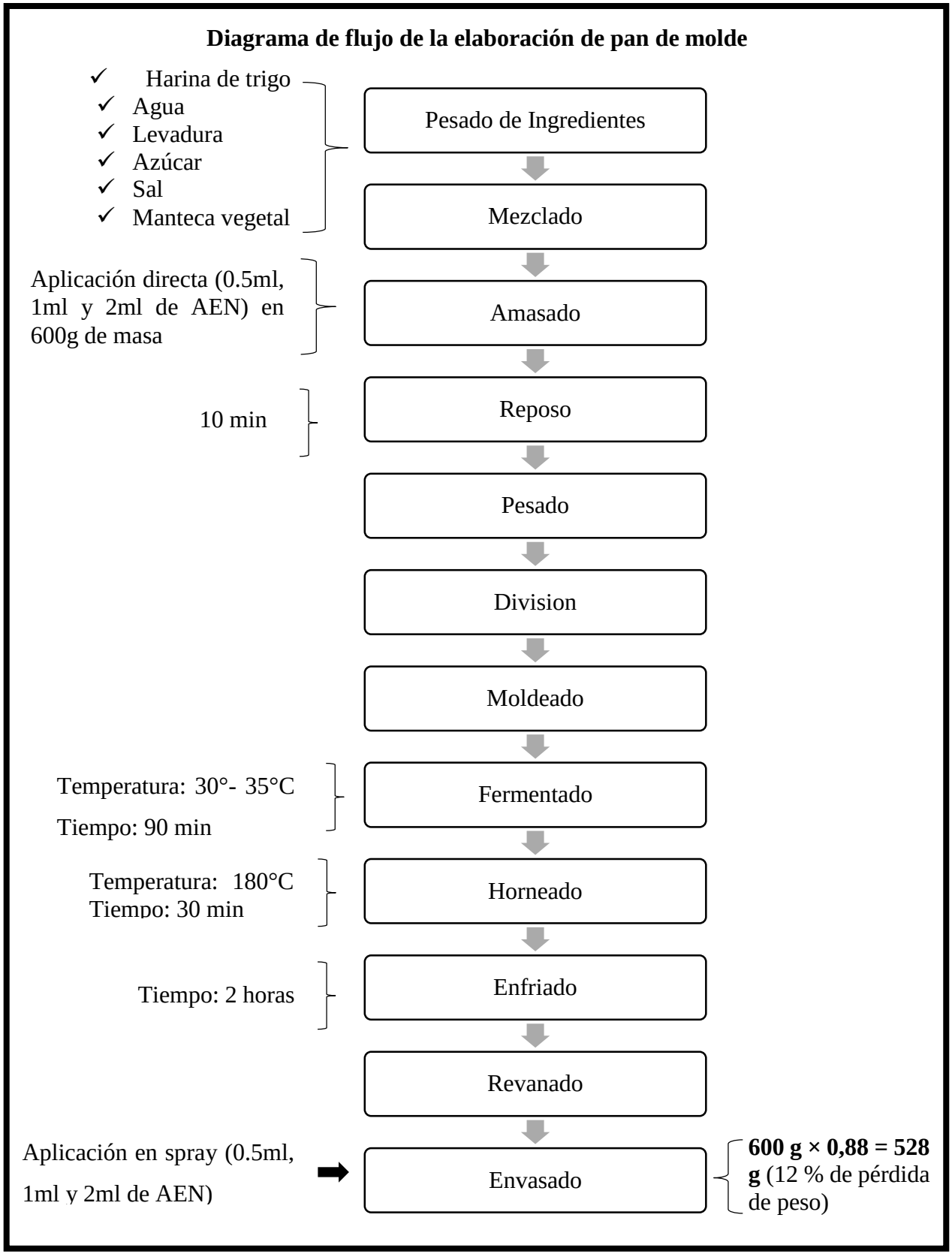


Figura 10 — Diagrama de flujo de la elaboración de pan de molde

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

a) Pesado

Se realizó el pesado de los insumos como la harina de trigo, agua, levadura, azúcar, sal, manteca vegetal, etc.,

b) Mezclado

Para cada tratamiento, se realizó inicialmente la mezcla homogénea de los ingredientes secos, conformados por harina panadera, sal, azúcar y el aceite esencial de naranja. Posteriormente, se incorporaron la manteca vegetal, la levadura fresca y el agua fría. El proceso de mezclado tuvo una duración de 3 a 5 minutos.

c) Amasado

El amasado se efectuó de manera mecánica durante 7 minutos en segunda velocidad, hasta obtener una masa uniforme con adecuada elasticidad y desarrollo de gluten.

d) Reposo

La masa se dejó reposar durante 10 minutos sobre una superficie previamente engrasada para evitar su adherencia y facilitar su manipulación.

e) Pesado y división

Finalizado el reposo, se determinó el peso total de la masa y posteriormente se dividió en porciones de 600 g para cada unidad de pan de molde. Paralelamente, los moldes fueron sometidos a un proceso de lavado, desinfección, secado y engrase con una fina capa de manteca vegetal para facilitar el desmolde del producto.

f) Moldeado

Cada porción de masa fue moldeada manualmente hasta obtener una forma cilíndrica uniforme, realizando operaciones de compresión, estiramiento y sellado. Finalmente, las masas fueron colocadas en los moldes previamente acondicionados.

g) Fermentación

Los moldes se dispusieron en bandejas y fueron introducidos en una cámara de fermentación a una temperatura de 30 a 32 °C durante 1 hora y 30 minutos, permitiendo el desarrollo y expansión de la masa.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

h) Horneado

El horno fue precalentado durante 55 minutos hasta alcanzar una temperatura de 180 °C. Posteriormente, los moldes fueron retirados de la cámara de fermentación e introducidos en el horno, donde permanecieron durante 25 minutos para completar el proceso de cocción.

i) Enfriado

Después del horneado, los panes se desmoldaron y se dejaron enfriar durante 2 horas a temperatura ambiente (25 °C).

j) Rebanado

Una vez fríos, los panes fueron cortados en 10 rebanadas bajo condiciones higiénicas para evitar contaminación.

k) Envasado

Las rebanadas se empacaron en bolsas de polietileno de alta densidad y se almacenaron en un ambiente fresco, seco y con poca exposición a la luz para su conservación.

4.6 Técnica e instrumentos

En la técnica e instrumentos se realizará el análisis de las variables independientes tales como el análisis microbiológico, análisis fisicoquímico y análisis sensorial.

4.6.1 Técnicas y métodos de análisis

4.6.1.1 Análisis fúngica de mohos en panes de molde (23 días)

De acuerdo Belen, 2017. La siembre para el análisis microbiológico de mohos y levaduras, se realizó un ensayo preliminar el mismo día de elaboración del pan de molde.

- Previa dilución en serie de las muestras de pan de molde se cultivó en ADS e incubados durante 3 a 5 días.

- Por otro lado, también se realizó en análisis microbiológico de los panes de molde tratados (0.5 ml, 1 ml y 2 ml) por el método directo en masa y spray a los 23 días de vida útil (el resultado se aprecia en la tabla 15)

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

a) Preparación de medio de cultivo:

- Se procedió a pesar los medios de cultivo según las indicaciones del frasco y según la cantidad deseada, rehidratando en agua destilada en un balón de vidrio.

- Se realizó calentamiento del medio hasta disolver completamente el agar en baño maría a 70 ºC.

- Se esterilizo en autoclave el medio cultivo ADS, a 15 libras de presión/15 minutos a 121 ºC.

- Luego se procedió a retirar de la autoclave y se dejó enfriar hasta 45 ºC y distribuido el medio en placas petri estériles y tubos de ensayo. Todo este proceso se realizó cerca al mechero bunsen, flameando bien la boca del balón para evitar la contaminación.

- Finalmente se procedió a esperar a que el medio solidifique, mientras se va rotulando.

4.6.1.2 Análisis fisicoquímico

a) Humedad

Determinación de humedad (método estándar 206.011 NTP 2018)

- La determinación del contenido de humedad se realizó mediante el método gravimétrico establecido método estándar 206.011 NTP 2018. Previamente se tararon las placas petri, incluyendo sus respectivas tapas y se registró su masa.

- Posteriormente, se pesaron entre 3 a 5 g de la muestra previamente preparada con una aproximación de 0.000 g

- Las muestras se colocaron en una estufa regular a 105ºC ±2 ºC y se mantuvieron durante 2 horas. Luego finalizando se colocaron las tapas correspondientes e inmediatamente fueron trasladados a un

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

desecados, donde permanecieron hasta alcanzar la temperatura ambiente.

- Una vez enfriadas, se determinó con precesión la masa Petri, incluido la masa seca registrándose este valor como (m1). El procedimiento se realizó de acuerdo con las condiciones establecidas del método correspondiente:

  Método de cálculo y fórmula

  En productos secos se hacen los cálculos expresándose en g/100 g

  $$H = \frac{(m-m1)*100}{m} \quad (3)$$

  donde

  H es la humedad, expresado en g/100g;

  m es la masa, en gramos, de la muestra original;

  m1 es la masa, en gramos, de la muestra seca.

  En productos húmedos se hacen los cálculos expresándose en g/100

b) pH

Determinación de potencial de hidrogeno (pH) (AOAC N°943.02 - potenciométrico)

- Se calibró el pH-metro utilizando soluciones buffer de pH 7,01 y 4,01 a temperatura ambiente.

- Se pesaron 10 g de muestra previamente triturada.

- La muestra se colocó en un matraz estéril y se adicionaron 100 mL de agua destilada a 25 °C.

- Posteriormente, la mezcla fue homogenizada durante 3 a 5 minutos hasta obtener una suspensión uniforme y libre de grumos.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

- Se dejó reposar la mezcla y se recuperó el sobrenadante en un vaso de precipitados de 100 mL.

- El electrodo del pH-metro, previamente calibrado, se introdujo en el sobrenadante.

- Finalmente se esperó la estabilización de la lectura y se registró el valor de pH correspondiente a cada muestra.

Este método se basa en la determinación de la concentración de hidrogeniones presentes en la solución acuosa Vargas, 2011.

c) Color instrumental

El color es una característica física importante de los alimentos, perceptible a través de la visión humana. Aunque el ojo puede distinguir una amplia gama de tonalidades, la apreciación visual está sujeta a la percepción individual, lo que puede generar variaciones en los resultados. Por ello, es necesario emplear equipos de medición instrumental que permitan evaluar el color de manera objetiva y cuantificable, facilitando la comparación y caracterización de los productos.

La determinación objetiva del color de cualquier producto sólido o líquido se realizó mediante un colorímetro, con el cual se obtiene las variables: luminosidad (L*, 0%= blanco, 100%= negro), a* (verde en valores negativos y rojo en valores positivos), y b* (amarillo en valores positivos y azul en valores negativos) Moreno, 2021**.**

4.6.1.3 Evaluación sensorial (escala hedónica)

En una escala hedónica de 1 a 9 se realizó la evaluación sensorial del pan molde donde; (9 les gustó excesivamente, a 8 les gustó mucho, a 7 les gustó algo, a 6 les gustó poco, a 5 les gustó neutro, a 4 les desagradó un poco, a 3 no les gustó, a 2 no les gustó nada). mucho y a 1 no me gustó en absoluto). La aceptabilidad general del pan molde con diferentes concentraciones de aceite esencial de naranja se realizó mediante un equipo sensorial de 30

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

panelistas internos semientrenados. Las muestras serán codificadas así mismo serán entregadas a los panelistas, simultáneamente. Las pruebas fueron realizadas en condiciones normales de luz, las cualidades sensoriales del pan molde se evaluó organolépticamente a temperatura ambiente de 26 ± 2 °C, en platos desechables una porción de 5g recibieron una porción de cada pan para probar.

Los criterios principales para evaluar las muestras fueron la textura, sabor, aroma, color y aceptabilidad general. A cada panelista se le proporciono una de cada muestra de cada tratamiento debidamente codificadas, correspondiente a tres muestras del grupo de experimental y una del grupo de control. Los panelistas evaluaron las muestras en función a los atributos sensoriales color, textura, sabor y aceptabilidad general. Para lo cual se evaluó mediante las cartillas de valuación sensorial de la siguiente forma: Según Malathy, Periyar Selvam, Sadiku, 2023.

Tabla 13 — Evaluación sensorial a escala hedónica

textura, sabor, aroma y color	
Les gustó excesivamente	9
Les gustó mucho	8
Les gusto algo	7
Les gusto poco	6
Les gusto neutro	5
Les desagrado poco	4
No les gusto	3
No les gusto nada	2
No me gusta en absoluto	1
FUENTE: Malathy, Periyar Selvam, Sadiku, 2023.	

4.6.1.2 Instrumentos y materiales

a) Materiales:

Muestra: pan de molde

- agua destilada
- algodón

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

- caja petri
- cuchillo
- matraz erlenmeyer
- micropipeta
- pabilo
- papel aluminio
- papel toalla
- pipeta
- platos descartables
- probeta
- soporte universal
- termómetro
- vasos descartables

b) Reactivos/ medios de cultivo

- agar dextrosa sabouraud
- agar OGY
- agua peptonada
- alcohol
- cloranfenicol
- etanol
- fosfato de potasio
- glicerol
- sulfato de amonio

c) Instrumentos o equipos

- amasadora
- balanza analítica
- equipo de destilación
- estufa
- horno
- mesa de acero inoxidable
- pH metro

d) Insumos

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

- aceite
- azúcar
- harina
- huevo
- leche en polvo
- levadura
- manteca
- polvo para hornear
- sal

4.7 Estadístico de investigación

Los resultados fueron ordenados en tablas, gráficos de dispersión, de barras y otros con el empleo del Microsoft Excel asimismo, fue analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA) conforme al diseño de experimento y de existir diferencias significativas entre los tratamientos, se procedió a realizar comparación múltiple de medias por Tukey. Para ello se utilizó los programas estadísticos Infostad. El modelo estadístico in vitro se utilizó un diseño DCA con 3 proporciones (0.1 %, 0.3 % y 0.5 %) y 2 microorganismos (*Penicillium sp.* y *Rhizopus sp.*) incluido control 0% de AEN para cada uno por separado, con la siguiente ecuación:

a) Para la primera etapa de análisis in vitro

$$Y_{ij}=\mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij} \quad (4)$$

donde

Y es la variable, de respuesta;

μ es la media general, de las observaciones;

αi es el efecto de proporciones, 0.1 %, 0.3 % y 0.5 %;

εij es el error experimental.

b) Para la segunda etapa de evaluación de aplicación en pan de molde

$$Y_{ij}=\mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij} \quad (5)$$

donde

Y es la variable, de respuesta;

μ es la media general, de las observaciones;

αi es el efecto de proporción y aplicación;

εij es el error experimental.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

- Nivel de significancia

  A un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ para ambas etapas

- Regla crítica o regla de decisión

  Condiciones para rechazar o aceptar las hipótesis.

  – Se acepta la hipótesis nula cuando $F0 < F\alpha$ caso contrario se rechaza la hipótesis nula.

  – Existen diferencias cuando p-value < nivel de significancia caso contrario no hay diferencias significativas.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

CAPÍTULO V
RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 Análisis de los resultados

5.1.1 Determinación del efecto antifúngico in vitro sobre *Penicillium sp* y *Rhizopus sp.* del aceite esencial de naranja

- **Determinación del efecto antifúngico de AEN en *Rhizopus sp***

  En la Figura 11 se presentan los resultados del efecto antifúngico del aceite esencial de cáscara de naranja sobre el moho *Rhizopus sp*., evaluado durante un periodo de 7 días. Para ello, se aplicaron diferentes concentraciones de aceite esencial correspondientes a 0.1 %, 0.3 % y 0.5 %, además de un tratamiento control sin aceite esencial, cada uno con sus respectivas repeticiones. Durante el primer día de evaluación no se observó presencia de crecimiento fúngico en ninguno de los tratamientos. Sin embargo, a partir del segundo día se evidenció el crecimiento de *Rhizopus sp*. en el tratamiento control, el cual no contenía aceite esencial. Del mismo modo, en el tratamiento T1 (0.1 %) se observó una mínima presencia de moho. Posteriormente, el crecimiento de las cepas fue monitoreado diariamente hasta completar los 7 días de evaluación. Al finalizar el ensayo, se realizó el conteo de colonias presentes en cada tratamiento y repetición, con la finalidad de determinar la eficacia antifúngica del aceite esencial y establecer la concentración más efectiva para inhibir el desarrollo del moho. Los resultados demostraron que el tratamiento T3 (0.5 %) presentó mayor efectividad antifúngica, debido a que no se observó desarrollo de *Rhizopus sp.* durante el periodo de evaluación. En contraste, el tratamiento control mostró un crecimiento abundante e incontable de colonias desde el segundo día. En el Anexo 1 se puede observar el crecimiento de *Rhizopus sp*. durante los siete días de evaluación; asimismo, en la Figura 11 se muestra el desarrollo del moho en los diferentes tratamientos.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

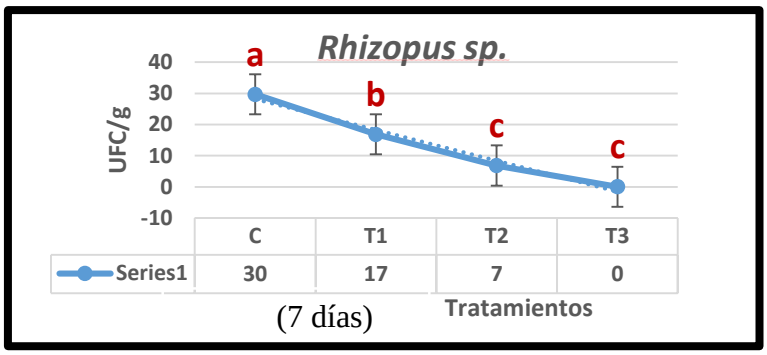


Figura 11 — Crecimiento de *Rhizopus sp*. por tratamiento

- **Determinación del efecto antifúngico de AEN en *Penicillium sp.***

  En la Figura 12 se presentan los resultados del efecto antifúngico del aceite esencial de cáscara de naranja sobre el moho *Penicillium sp.* evaluado durante un periodo de 7 días. Para ello, se aplicaron diferentes concentraciones de aceite esencial correspondientes a 0.1 %, 0.3 % y 0.5 %, además de un tratamiento control sin aceite esencial, cada uno con sus respectivas repeticiones. Durante el primer día de evaluación no se evidenció crecimiento de moho en ninguno de los tratamientos. Sin embargo, a partir del segundo día se observó el crecimiento de *Penicillium sp.* en el tratamiento control, el cual no contenía aceite esencial. Asimismo, en el tratamiento T1 (0.1 %) se presentó una mínima presencia de crecimiento.

  Posteriormente, el desarrollo de las cepas fue monitoreado diariamente durante los siete días de evaluación. Al finalizar el ensayo, se realizó el conteo de colonias en todos los tratamientos y repeticiones, con la finalidad de determinar la eficacia antifúngica del aceite esencial y establecer la concentración más efectiva para inhibir el crecimiento del moho.

  Los resultados obtenidos demostraron que el tratamiento T3 (0.5 %) presentó mayor efectividad antifúngica, seguido del tratamiento T2 (0.3 %), debido a que ambos inhibieron significativamente el desarrollo de *Penicillium sp*. En contraste, el tratamiento control mostró un crecimiento abundante e incontable de colonias desde el segundo día de evaluación.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

En el Anexo 2 se presentan los resultados. Asimismo, en la Figura 12 se observa el desarrollo del moho en los diferentes tratamientos.

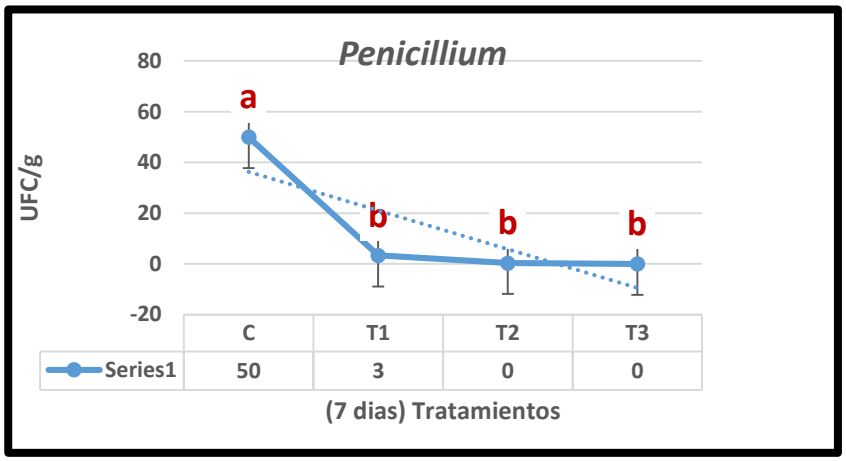


Figura 12 — Crecimiento de *Penicilium sp.* por tratamiento

5.1.2 Efecto antifúngico del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) en diferentes concentraciones y métodos de aplicación sobre las características microbiológicas del pan de molde

En la Tabla 14 se presentan los resultados de los análisis microbiológicos realizados al pan de molde tratado con diferentes concentraciones de aceite esencial de naranja. Asimismo, se evaluó la aceptabilidad microbiológica del producto de acuerdo con las NTS (Normas Técnicas de Sanidad), con la finalidad de determinar la eficacia del aceite esencial como agente antifúngico.

Los análisis estadísticos evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$); por lo tanto, se aceptó la hipótesis alterna y se rechazó la hipótesis nula, considerando un nivel de significancia del 95 %. Posteriormente, se realizó la prueba de comparación múltiple de Tukey (ver Anexo 3), la cual permitió identificar los tratamientos con mayor efectividad antifúngica.

Cada tratamiento fue desarrollado con sus respectivas repeticiones. Los resultados demostraron que el método directo presentó mayor efectividad en las concentraciones de 1 mL y 2 mL de aceite esencial de naranja aplicado al pan de molde, debido a que no se evidenció desarrollo de mohos durante el periodo de evaluación. En contraste, el tratamiento control presentó un crecimiento incontable

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

de mohos a las 72 horas, encontrándose fuera de los límites permitidos por las Normas Técnicas de Sanidad, por lo que fue rechazado microbiológicamente.

Asimismo, en la Figura 14 se puede observar el desarrollo microbiológico de los diferentes tratamientos evaluados.

Tabla 14 — Análisis microbiológico

PRODUCT0 Pan de molde	Medio de cultivo	N° de colonias en 72 h	N° de colonias en 7 días	Observación	Tipo de mohos	Numeración UFC/ml	Capacidad promedio	Aceptación o negación
Método directo 0.5ml	A.D.S	0	0	-		<1x10^1	<10^3	Se acepta
		1	1	verde	*Penicillium sp.*			
		0	0	-				
Método directo 1ml	A.D.S	0	0	-		<1x10^1	<10^3	Se acepta
		0	0	-				
		0	0	-				
Método directo 2ml	A.D.S	0	0	-		<1x10^1	<10^3	Se acepta
		0	0	-				
		0	0	-				
Método spray 0.5ml	A.D.S	0	1	verde	*Penicillium sp.*	<1x10^1	<10^3	Se acepta
		0	0	-				
		1	3	verde	*Penicillium sp.*			
Método spray 1ml	A.D.S	0	3	verde	*Penicillium sp.*	<1x10^1	<10^3	Se acepta
		0	0	-				
		0	0	-				
Método spray 2ml	A.D.S	0	2	verde	*Penicillium sp.*	<1x10^1	<10^3	Se acepta
		0	0	-				
		0	0	-				
Control (sin AEN)	A.D.S	Incontable	Incontable	verde	*Penicillium sp.*	DNPC	<10^3	Se rechaza
		Incontable	Incontable	verde	*Penicillium sp.*			
		Incontable	Incontable	verde	*Penicillium sp.*			

* Clave

DNPC muy numerosas para contar

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

5.1.3 Características fisicoquímicas de pan de molde aplicado con aceite esencial de cáscara de naranja (C*itrus sinensis)* en diferentes proporciones y aplicaciones como efecto antifúngico

Características fisicoquímicas y efecto antifúngico del aceite esencial de cascara de naranja (C*itrus sinensis)* aplicado en pan de molde.

a) Determinación de humedad

En la Figura 13 se presentan los resultados del contenido de humedad de los panes de molde tratados con diferentes concentraciones de aceite esencial de cáscara de naranja (0.5, 1 y 2 mL), aplicados mediante dos métodos de incorporación (directo y spray), incluyendo el tratamiento control. Las evaluaciones fueron realizadas a las 48 horas posteriores a la elaboración del producto.

El tratamiento T1, correspondiente al método directo con 0.5 mL de aceite esencial de naranja (AEN), presentó el mayor contenido de humedad con un valor de 22.2 %. Un segundo grupo estuvo conformado por los tratamientos T2, T3 y el tratamiento control, los cuales mostraron valores intermedios de humedad. Finalmente, el tercer grupo estuvo integrado por los panes tratados mediante el método spray, donde el tratamiento T5 (método spray con 1 mL de AEN) presentó el menor porcentaje de humedad, con un valor de 16.75 %, siendo este el tratamiento con menor contenido de humedad en el pan de molde.

Con los datos obtenidos se realizó el análisis de varianza (ANOVA) (ver Anexo 4), encontrándose diferencias significativas ($p < 0.05$). Posteriormente, se efectuó la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey.

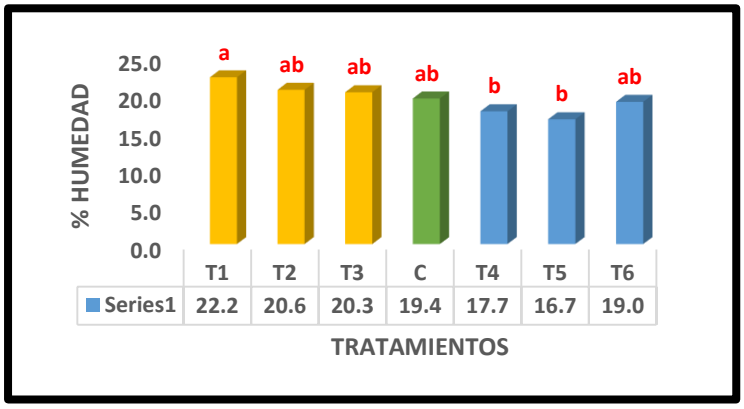


Figura 13 — Determinación de humedad del pan de molde

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

b) Determinación de potencial de hidrógeno (pH)

En la Figura 14 se muestran los resultados del pH de los panes de molde tratados con diferentes concentraciones de aceite esencial de cáscara de naranja (0.5, 1 y 2 mL), aplicados mediante dos métodos de incorporación (directo y spray), incluyendo el tratamiento control. Las evaluaciones se realizaron a las 48 horas posteriores a la elaboración del producto.

El tratamiento T4, correspondiente al método spray con 0.5 mL de aceite esencial de naranja (AEN), presentó el mayor valor de pH, alcanzando un promedio de 5.95. El segundo grupo estuvo conformado por los tratamientos T5, T6 y el tratamiento control, siendo este último el que registró el menor valor de pH con 5.79. Finalmente, el tercer grupo estuvo integrado por los tratamientos T1, T2 y T3, correspondientes a los panes de molde tratados mediante el método directo. Los resultados obtenidos evidencian que tanto la concentración del aceite esencial de cáscara de naranja como el método de aplicación influyeron significativamente sobre el pH del pan de molde.

Con los resultados obtenidos se realizó el análisis de varianza (ANOVA) (ver Anexo 4), encontrándose diferencias significativas ($p < 0.05$). Posteriormente, se aplicó la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey.

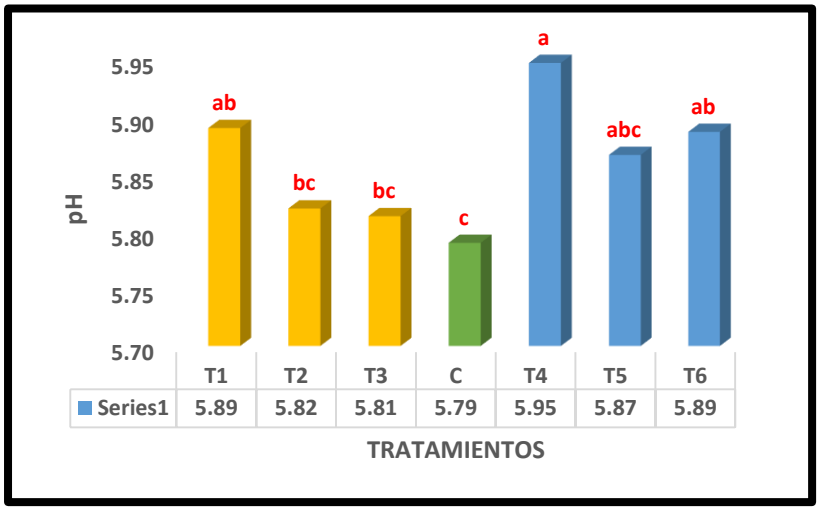


Figura 14 — Comparación de medias de pH de los tratamientos

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

c) Color instrumental

- **Colorimetría**

En la figura 15,16,17 se muestran los valores de colorimetría de los panes de molde que fueron aplicados con diferentes % de aceite esencial de cascara de naranja (0.5, 1 y 2 mL) y dos métodos de aplicación (directo y spray), incluido el control, analizados a las 48 horas de elaboración. Con esta información se realizó Análisis de Varianza (ANOVA) ver (anexo 4) Al encontrarse diferencias significativas ($p < 0,05$), se realizó la prueba de Tukey, identificándose tres grupos estadísticamente diferentes, siendo luminosidad (L*, 0 %= blanco, 100 %= negro), a* (verde en valores negativos y rojo en valores positivos), y b* (amarillo en valores positivos y azul en valores negativos).

En la figura 15 se presentan los resultados de Luminosidad de las muestras analizadas para cada tratamiento del pan molde, donde los varales de luminosidad (L*) variaron de 40.90 a 49.86 que corresponden al tratamiento control (pan molde sin aplicación de AEN) así mismo el tratamiento de menor luminosidad fue T1 (método directo con 0.5 mL de AEN).

En la figura 16 se puede apreciar en cuanto los valores de a* también variaron de 12.75 a 18.67 que corresponde al tratamiento T3 (método directo de 2 mL de AEN) de igual forma el tratamiento de menor intensidad fue T1 (método directo con 0.5 mL de AEN), en el cual los valores de a* representan de color rojo en valores positivos.

En la figura 17 se puede aprecia en cuanto los valores de b* variaron de 12.06 a 13.67 que corresponde al tratamiento T3 (método directo de 2 mL de AEN) de igual forma el tratamiento de menor intensidad fue T1 (método directo con 0.5 mL de AEN), en el cual los valores de b* representan de color amarillo en valores positivos y de igual forma se puede observar las comparaciones de media y en el Anexo 3 de la tabla 27 donde los valores muestra que se acepta la hipótesis alterna para valores de $p < 0.05$, rechazándose la hipótesis nula.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

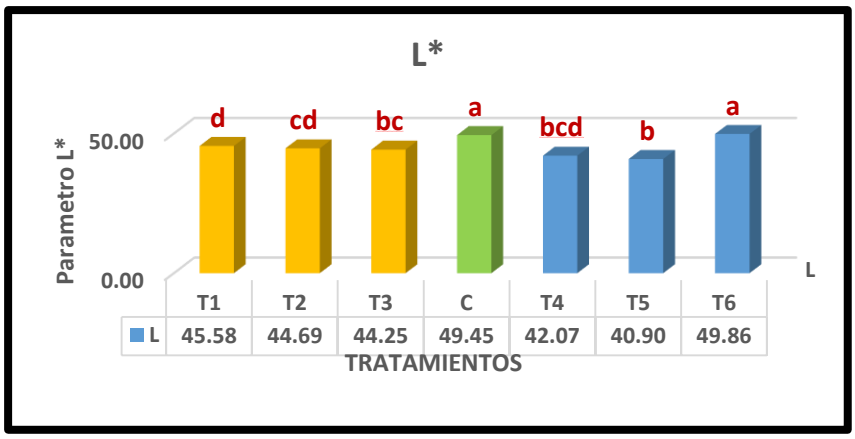


Figura 15 — Comparación de medias colorimétrica de L*

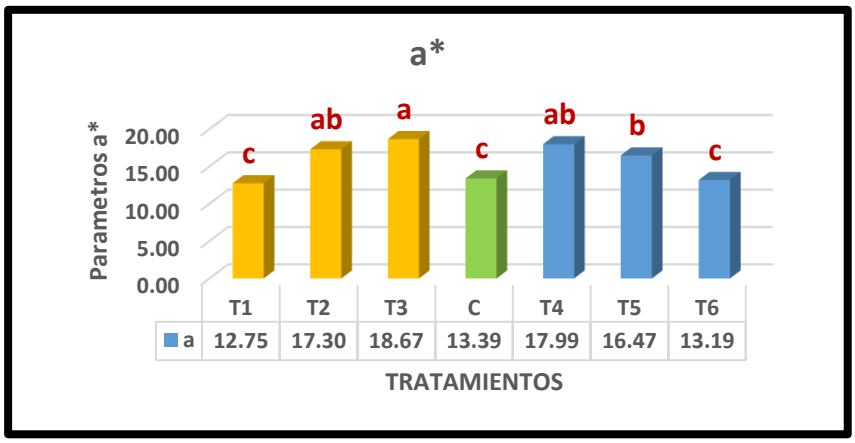


Figura 16 — Comparación de medias colorimétrica de a*

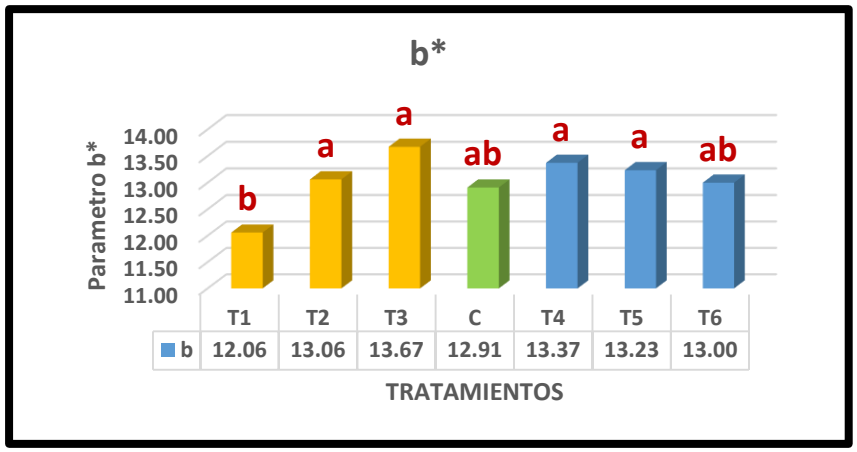


Figura 17 — Comparación de medias colorimétrica de b*

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

5.1.4 Evaluar las características sensoriales de pan de molde aplicado con el aceite esencial de cáscara de naranja (C*itrus sinensis)* en diferentes proporciones y aplicaciones como efecto antifúngico

a) Color

En la Figura 18 se presentan los valores obtenidos para el atributo color del pan de molde tratado con diferentes concentraciones de aceite esencial de cáscara de naranja (0.5, 1 y 2 mL), aplicados mediante dos métodos de incorporación (directo y spray), incluyendo el tratamiento control. Las evaluaciones fueron realizadas a las 48 horas posteriores a la elaboración del producto. El tratamiento T1, correspondiente al método directo con 0.5 mL de aceite esencial de naranja (AEN), presentó el mayor valor de aceptabilidad para el atributo color, alcanzando un promedio de 7.77. Esto indica una mayor preferencia sensorial por parte de los evaluadores en comparación con los demás tratamientos.

El segundo grupo estuvo conformado por los tratamientos T2 y T3, los cuales presentaron valores similares al tratamiento control, evidenciando una aceptabilidad intermedia respecto al atributo color. Finalmente, el tercer grupo estuvo integrado por los tratamientos aplicados mediante el método spray, donde el tratamiento T5 (método spray con 1 mL de AEN) presentó el menor nivel de aceptabilidad, obteniendo un valor de 7.27.

En general, los resultados indican que tanto la concentración del aceite esencial como el método de aplicación influyeron significativamente en la percepción del color del pan de molde, siendo el método directo con 0.5 mL de aceite esencial el tratamiento con mayor aceptación sensorial.

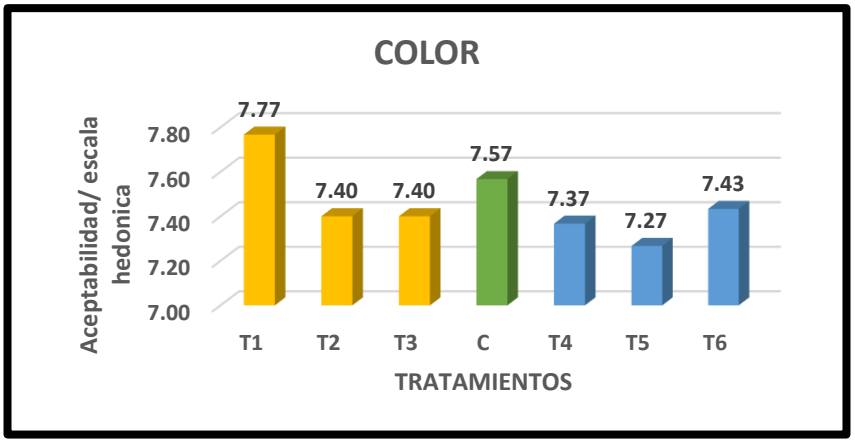


Figura 18 — Comparación de medias del color entre los tratamientos

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

b) Olor

En la Figura 19 se presentan los valores obtenidos para el atributo olor del pan de molde tratado con diferentes concentraciones de aceite esencial de cáscara de naranja (0.5, 1 y 2 mL), aplicados mediante dos métodos de incorporación (directo y spray), incluyendo el tratamiento control. Las evaluaciones fueron realizadas a las 48 horas posteriores a la elaboración del producto.

El tratamiento control presentó la mayor aceptabilidad respecto al atributo olor, alcanzando un valor promedio de 7.57. Seguidamente, el tratamiento T1, correspondiente al método directo con 0.5 mL de aceite esencial de naranja (AEN), mostró valores cercanos al control, evidenciando una buena aceptabilidad sensorial por parte de los evaluadores. El segundo grupo estuvo conformado por los tratamientos T2 y T3, los cuales presentaron valores intermedios de aceptabilidad. Finalmente, el tercer grupo estuvo integrado por los tratamientos aplicados mediante el método spray, donde el tratamiento T5 (método spray con 1 mL de AEN) presentó la menor aceptabilidad en cuanto al atributo olor, obteniendo un valor de 6.83.

En general, los resultados evidencian que tanto la concentración del aceite esencial de cáscara de naranja como el método de aplicación influyeron significativamente en la percepción sensorial del olor del pan de molde, observándose una mayor aceptación en los tratamientos con menor concentración de aceite esencial y aplicación directa.

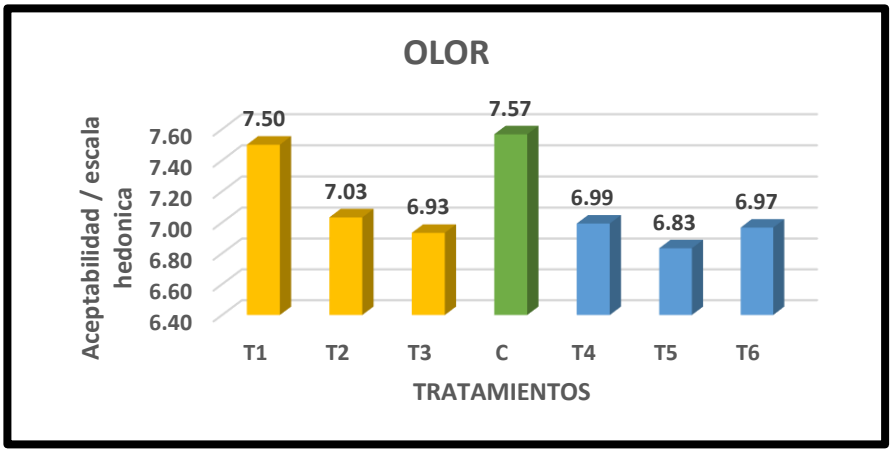


Figura 19 — Comparación de medias del olor entre los tratamientos

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

c) Textura

En la Figura 20 se presentan los valores obtenidos para el atributo textura de los panes de molde tratados con diferentes concentraciones de aceite esencial de cáscara de naranja (0.5, 1 y 2 mL), aplicados mediante dos métodos de incorporación (directo y spray), incluyendo el tratamiento control. Las evaluaciones fueron realizadas a las 48 horas posteriores a la elaboración del producto. El tratamiento T1, correspondiente al método directo con 0.5 mL de aceite esencial de naranja (AEN), presentó el mayor nivel de aceptabilidad respecto al atributo textura, alcanzando un valor promedio de 7.17, siendo considerado el tratamiento con mejor textura entre los evaluados. El segundo grupo estuvo conformado por los tratamientos T2, T3 y el tratamiento control, los cuales presentaron valores intermedios de aceptabilidad. Finalmente, el tercer grupo estuvo integrado por los tratamientos T4, T5 y T6, correspondientes a los panes aplicados mediante el método spray.

Dentro de este último grupo, el tratamiento T4 (método spray con 0.5 mL de AEN) presentó la menor aceptabilidad en cuanto al atributo textura, evidenciando que el método de aplicación influyó significativamente en las características texturales del pan de molde.

En general, los resultados demuestran que la aplicación directa del aceite esencial de cáscara de naranja favoreció una mejor aceptación sensorial de la textura en comparación con el método spray.

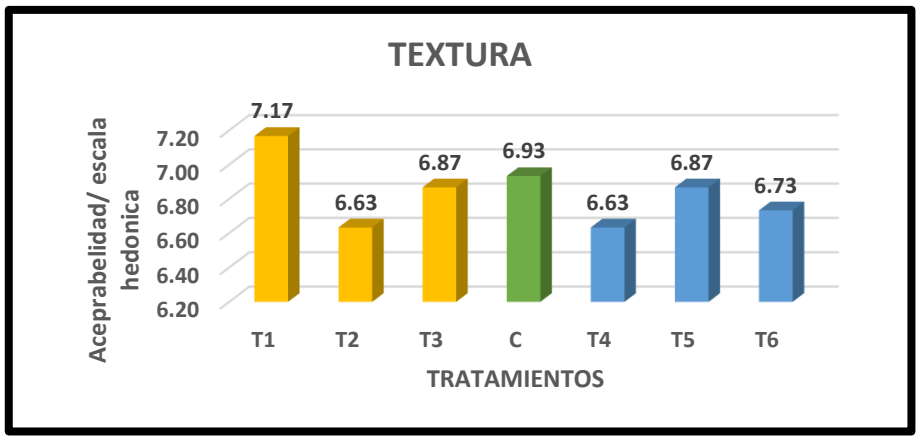


Figura 20 — Comparación de medias de la textura entre los tratamientos

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

d) Sabor

En la Figura 21 se presentan los valores obtenidos para el atributo sabor del pan de molde tratado con diferentes concentraciones de aceite esencial de cáscara de naranja (0.5, 1 y 2 mL), aplicados mediante dos métodos de incorporación (directo y spray), incluyendo el tratamiento control. Las evaluaciones fueron realizadas a las 48 horas posteriores a la elaboración del producto.

El tratamiento T1, correspondiente al método directo con 0.5 mL de aceite esencial de naranja (AEN), presentó la mayor aceptabilidad respecto al atributo sabor, alcanzando un valor promedio de 7.27, siendo considerado el tratamiento más agradable sensorialmente por los evaluadores. El segundo grupo estuvo conformado por los tratamientos T2, T3 y el tratamiento control, los cuales presentaron valores intermedios de aceptabilidad, manteniendo características sensoriales aceptables en cuanto al sabor. Finalmente, el tercer grupo estuvo integrado por los tratamientos aplicados mediante el método spray, donde el tratamiento T5 (método spray con 1 mL de AEN) presentó la menor aceptabilidad sensorial, obteniendo un valor de 6.33, siendo considerado el tratamiento menos agradable en cuanto al atributo sabor del pan de molde.

En general, los resultados evidencian que tanto la concentración del aceite esencial de cáscara de naranja como el método de aplicación influyeron significativamente en la percepción sensorial del sabor, observándose una mayor aceptación en los tratamientos aplicados mediante el método directo y en menores concentraciones de aceite esencial.

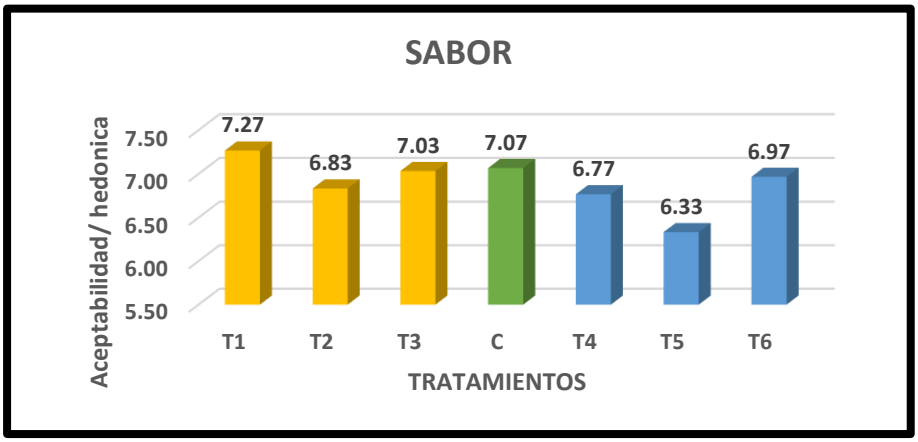


Figura 21 — Comparación de medias del sabor entre los tratamientos

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

5.2 Contrastación de Hipótesis

5.2.1 Hipótesis general:

La aplicación de aceite esencial de cascara de naranja (*Citrus sinensis*) en diferentes proporcione (0.5, 1 y 2 mL) in vitro presenta efecto antifúngico sobre las características microbiológicas (*Penicilium sp. Rhizupos sp.*), fisicoquímicas (Humedad, pH y Color instrumental) y sensoriales (Color, olor, textura y sabor) del pan molde.

a) Características Microbiológicas in vitro

- **Hipótesis especifica:** Los porcentajes (0.1 %, 0.3 % y 0.5 %) del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) presenta efecto antifúngico sobre *Penicilium sp. Rhizupos sp.*
  - **Ho:** No existen diferencias significativas en las proporciones (0.1 %, 0.3 % y 0.5 %) del aceite esencial de cascara de naranja (*Citrus sinensis*) como antifúngico sobre *Penicilium sp. Rhizupos sp.*
  - **Ha:** Si existen diferencias significativas en las proporciones (0.1 %, 0.3 % y 0.5 %) del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) como antifúngico sobre *Penicilium sp. Rhizupos sp.*

    Nivel de significancia $\alpha = 0.05$
    p-valor para *Rhizupos*: 0.000 = < 0.05 (Ver Anexo 1)
    p-valor para *Penicillium*: 0.000 = < 0.05 (Ver Anexo 2)
    Se acepta la hipótesis alterna para valores de $p < 0.05$, rechazándose la hipótesis nula.

b) Características Microbiológicas en pan de molde

- **Hipótesis especifica:** La aplicación del aceite esencial de cascara de naranja (*Citrus sinensis)* en diferentes proporciones (0.5 , 1 y 2 mL) y aplicaciones (método directo y método spray) en el pan de molde influye significativamente en la característica microbiológica.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

- **Ho:** No existen diferencias significativas en las características microbiológicas de la aplicación del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis)* en diferentes proporciones (0.5 , 1 y 2 mL) y aplicaciones (método directo y método spray) en el pan de molde.
- **Ha:** Si existen diferencias significativas en las características microbiológicas de la aplicación del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis)* en diferentes proporciones (0.5, 1 y 2 mL) y aplicaciones (método directo y método spray) en el pan de molde.

  Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

  p-valor para tamaño de la planta: 0.000 = < 0.05 (Ver Anexo 3)

  Se acepta la hipótesis alterna para valores de $p < 0.05$, rechazándose la hipótesis nula.

c) Características Fisicoquímicas

- **Hipótesis Específica:** La aplicación del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis)* en diferentes proporciones y aplicaciones en el pan molde influye significativamente en las características fisicoquímicas.

  - **Ho:** No existen diferencias significativas en las características fisicoquímicas de la aplicación del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis)* en diferentes proporciones y aplicaciones en el pan molde.
  - **Ha:** Si existen diferencias significativas en las características fisicoquímicas en la aplicación del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis)* en diferentes proporciones y aplicaciones en el pan molde.

    Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

    p-valor para humedad: 0.008 = < 0.05 (Ver Anexo 4.1)

    p-valor para pH: 0.000 = < 0.05 (Ver Anexo 4.2)

    p-valor para Color instrumental (L, a, b): 0.000 = < 0.05 (Ver Anexo 4.3)

    Se acepta la hipótesis alterna para valores de $p < 0.05$, rechazándose la hipótesis nula.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

d) Características Sensorial

- **Hipótesis Específica:** La aplicación del aceite esencial de cascara de naranja (*Citrus sinensis)* en diferentes proporciones y aplicaciones en el pan molde influye significativamente en las características sensoriales.
  - **Ho:** No existen diferencias significativas en las características sensoriales de la aplicación del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis)* en diferentes proporciones y aplicaciones en el pan molde
  - **Ha:** Si existen diferencias significativas en las características sensoriales de la aplicación del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis)* en diferentes proporciones y aplicaciones en el pan molde

    Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

    p-valor para Color: 0.862 = > 0.05 (Ver Anexo 5.1)

    p-valor para Olor: 0.537 = > 0.05 (Ver Anexo 5.2)

    p-valor para Textura: 0.733 = > 0.05 (Ver Anexo 5.3)

    p-valor para Sabor: 0.341 = > 0.05 (Ver Anexo 5.4)

    Se acepta la hipótesis nula para valores de $p > 0.05$, rechazándose la hipótesis alterna.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

5.3 Discusiones

5.3.1 Determinación del efecto antifúngico in vitro sobre *Penicillium sp.* y *Rhizopus sp* del aceite esencial de naranja

a) Determinación del efecto antifúngico de AEN en *Rhizopus sp*

Los resultados obtenidos para la determinación del efecto antifungico de aceite esencial de cascara de naranja aplicado en *Rhizopus sp.* oscilaron en un rango de 29.7 a 0.0 UFC/g durante 7 días de evaluación del crecimiento de las cepas para ello se aplicó aceite esencial de naranja en diferentes proporciones (0.1 %, 0.3 % y 0.5 %)) con sus respectivas repeticiones. Al igual que (Dragovi, 2023) en su investigación determinó que la principal composición volátil del aceite esencial de Citrus obtenido por hidrodestilación, consistía en limoneno (17,06 %), linalol (46,34 %) y acetato de linalilo (17,69 %), se evaluó la actividad antifúngica in vitro del aceite esencial en tres concentraciones (0,5, 1, 2.5 y 5µg/mL), contra *Rhizopu* a los 6 días de incubación fue de 67,25 ± 0,35 mm con una dosis de 20 µL, mientras que el crecimiento en el control fue de 90,00 ± 0,00 mm asi mismo Portillo Ruiz (2005), donde el moho del género *Rhizopus* tuvo un crecimiento rápido, llenando las cajas control en 6 días, entre las distintas fracciones de aceite esencial de orégano (F=3.81, p=0.0087). Sin embargo, la fracción 5 de mayor concentración tuvo una mayor inhibición del crecimiento fúngico a partir del tercer día, Así mismo Freddy y Co., (1998) el efecto inhibitorio ejercido por las fracciones de aceite esencial a una concentración de 100 ppm tuvo su máximo al segundo día, alcanzando un 73 % de inhibición en el crecimiento radial; a los 6 días las concentraciones de 150 y 200 ppm ejercieron los mayores efectos inhibitorios en el crecimiento radial de este moho, alcanzando valores de más del 90 %. (Ahmad & Bachtar Bakrie, 2023), encontraron que los aceites esenciales de naranja (*Citrus sinensis*) se clasifican como terpenoides (α–sitral 8.73 %; pineno 1.25 %; sabineno 1.81 %; limoneno 33.3 %). Con base en estos hallazgos, el α-citral es uno de los componentes volátiles esenciales del aceite como antifúngico.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

b) Determinación del efecto antifúngico de AEN en *Penicillium sp.*

Los resultados obtenidos para la determinación del efecto antifungico de aceite esencial de cascara de naranja aplicado en *Penicillium sp.* fluctuaron entre 50 a 0.0 UFC/g durante 7 días de evaluación del crecimiento de las cepas para ello se aplicó aceite esencial de naranja en diferentes proporciones (0.1 %, 0.3 % y 0.5 %) con sus respectivas repeticiones. Estos resultados son similares al de Pereira y otros (2025), donde utilizó un diseño compuesto central para determinar las proporciones óptimas de AE para inhibir el crecimiento de hongos. La mejor combinación totalizó 11.77 µL, compuesta por 34.2 % de canela, 42.5 % de clavo y 23.3 % de laurel. Las concentraciones mínimas inhibitorias y letales de la mezcla optimizada fueron ambas de 20µL/mL de inóculo fúngico. La aplicación de esta mezcla extendió la vida útil hasta 7 días cuando agregó a la masa y hasta 22 días en la superficie del pan. De igual forma Bukari, y otros (2024), Determino que la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), la CI50, la CI90 y la CI95 contra el crecimiento de *penicillium* se determinaron mediante pruebas en placa de agar después de 7 días de incubación. El crecimiento moho se inhibió completamente (100 %) con una concentración del AE del 10 % (p/v). Las CMI, CI50, CI90 e CI95 frente a *penicillium* fueron del 0.1 %, 0.25 %, 1.23 % y 2.11 %, mientras que frente a E. salmonicolor fueron del 0.01 %, 0.13 %, 0.75 % y 1.35 %, respectivamente. Este estudio demuestro que el aceite esencial de cáscara de naranja dulce posee actividad antifúngica. Por los componentes presentes tal como (Lima, y otros, 2020) mencionaron el limoneno fue el principal monoterpeno identificado en los AE de cáscara de naranja lima (95.2 %) y naranja navel bahía (93.2 %). Los AE de naranja lima y naranja navel bahía inhibieron el 91.95 % y el 80.05 % del crecimiento del moho respectivamente, a la dosis más alta evaluada (100 µL). Este estudio reveló el potencial biotecnológico de los AE extraídos de la cáscara de dos variedades de cítricos, que pueden aplicarse como antifúngicos, biopelículas para recubrir y conservar.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

5.3.2 Evaluación de las características microbiológicas de pan de molde

Los resultados obtenidos del análisis microbiológico realizado en el pan de molde tratado con aceite esencial de cáscara de naranja evidenciaron que el método de aplicación directa presentó mayor efectividad antifúngica, especialmente en las concentraciones de 1 mL y 2 mL, donde no se observó desarrollo de mohos durante el periodo de evaluación. En contraste, el tratamiento control presentó crecimiento incontable de mohos a las 72 horas, encontrándose fuera de los límites permitidos por la Norma Sanitaria para la Fabricación y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería, la cual establece un límite mínimo de 100 UFC/g y un máximo de 1000 UFC/g Ministerio de Salud del Perú (2010). Por ello, el tratamiento control fue rechazado microbiológicamente.

Estos resultados coinciden con lo reportado por Baroty y colaboradores (2010), quienes evaluaron el efecto inhibidor del aceite esencial de corteza aplicado en pan frente a *Aspergillus niger y Penicillium,* utilizando concentraciones de 10, 25, 50, 75 y 100 µg/mL. Los autores observaron una inhibición dependiente de la dosis, alcanzando hasta un 100 % de inhibición del crecimiento fúngico con la concentración más alta (100 µg/mL), demostrando la eficacia antifúngica del aceite esencial.

También Bukari, y otros 2024, estudiaron que las concentraciones del 10 % y 1 % del AE de naranja causaron una inhibición del 100 % de E. salmonicolor en todos los días de observación las otras concentraciones (0.001 % – 0. 1% p/v) inhibieron el crecimiento de mohos en menos del 50 % durante todo el experimento. En un estudio similar Belen, y otros (2017) demostró que el aceite esencial de orégano presenta mejor eficiencia aplicado en masa en su mayor concentración de (1 % de la masa total), ya que detiene el crecimiento fúngico hasta 504 horas (21 días), es decir que triplica la acción antimicrobiana del conservante químico. Asímismo el aceite esencial de canela detiene en su totalidad el crecimiento fúngico en su dosis menor (0.25 de la masa total) y logra hacerlo por más de los 21 días programas para estos estudios. Al igual que Flores Tique (2017) en la evaluación de mohos determino que el tratamiento 1 % se manifiesta de 50 a 1080 ufc/g, para el tratamiento 1.5 % de 10 a 1620 ufc/g y para el tratamiento 2 % de 30 a 1760 ufc/g. Según la Norma Sanitaria para la Fabricación y Expendio de

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Productos de Panificación, Galletería y Pastelería 2010 menciona que el límite mínimo es 100 ufc/g y el límite máximo es de 1000ufc/g MINSA (2010), por otro lado Velázquez, Nuñez et al. (2013) investigaron los componentes de los aceites esenciales de cáscara de naranja y encontraron que el limoneno (96.6 %) era el principal , seguido de otros terpenos, como el mirceno (1.72 %) y el β-pineno (0.53 %). De igual sentido Espina et al. (2011) realizo un estudio de cáscara de naranja española e identificaron 56 componentes; los principales fueron el limoneno (85.5 %), el óxido de cislimoneno (1.03 %) y el mirceno (0.92 %). Cabe destacar que algunos estudios ya han demostrado la influencia de los genotipos en las composiciones químicas de los aceites esenciales de cítricos; en todos los hallazgos, el limoneno fue un constituyente principal Hosni et al., (2010).

5.3.3 Características fisicoquímicas de pan de molde

a) Determinación de humedad

Los resultados obtenidos del contenido de humedad de los panes de molde que fueron aplicados con diferentes % de aceite esencial de cascara de naranja (0.5, 1 y 2 mL) y dos métodos de aplicación (directo y spray), incluido el control, analizados a las 48 horas de elaboración, oscilan en un rango de 16.7 a 22.2 % estos valores son similares con los hallazgos de Lemos, y otros (2025), donde el contenido de humedad varió del 15.3 % al 24.2 % en la conservación de pasteles. De igual forma estos valores eran los esperados y son similares de los estudios de Dannenberg (2019). Donde la humedad varió del 19.6 % al 38.0 %. La adición de aceite esencial de cáscara de naranja no afectó significativamente el contenido de humedad. Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por Tique (2017), quien encontró que el contenido de humedad del pan se ve influenciado tanto por el tiempo de almacenamiento como por la concentración del tratamiento aplicado. El autor observó una disminución progresiva de la humedad entre los días 15 y 21 de almacenamiento, registrando valores de 35.71 % a 27.51 % para el tratamiento al 1 %, de 34.51 % a 27.60 % para el tratamiento al 1.5 % y de 34.24 % a 25.97 % para el tratamiento al 2 %. Esta reducción puede atribuirse a la pérdida gradual de agua durante el almacenamiento del producto.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Asimismo, los valores de humedad obtenidos en la presente investigación se encuentran dentro de los límites establecidos por el Ministerio de Salud MINSA (2010), el cual señala que el contenido máximo de humedad permitido para el pan de molde es de 40 %. Por lo tanto, los tratamientos evaluados cumplen con los requisitos sanitarios exigidos para garantizar la calidad e inocuidad del producto.

b) Determinación de Potencial de Hidrógeno (pH)

los resultados obtenidos del contenido de pH de los panes de molde que fueron aplicados con diferentes % de aceite esencial de cascara de naranja (0.5, 1 y 2 mL) y dos métodos de aplicación (directo y spray), incluido el control, analizados a las 48 horas de elaboración, los valores fluctuaron entre 5.79 a 5.95. De igual forma Flores Tique (2017) quien registró valores entre 5.74 y 5.99 para el tratamiento al 1 %, entre 5.73 y 6.13 para el tratamiento al 15 %, y entre 5.72 y 6.08 para el tratamiento al 2 %. De igual manera Fierro (2010), al evaluar la vida útil del pan de molde durante 10 días, obtuvo valores de pH comprendidos entre 5.29 y 5.47. Asimismo, Balarezo (2011), en un estudio sobre pan de molde elaborado con propionato de calcio, reportó valores de pH entre 5.46 y 5.59.

Estos resultados evidencian que el pH del pan de molde se mantiene dentro de rangos similares a los descritos en investigaciones previas. Según Magan (2009), valores de pH superiores a 6 pueden favorecer el crecimiento de ciertos mohos, lo que podría afectar la estabilidad microbiológica del producto. Por ello, mantener el pH en niveles inferiores a este valor contribuye a mejorar la conservación y calidad sanitaria del pan de molde.

Por otro lado, No existe un "rango mínimo y máximo" normativo universal para el pH del pan molde, sino más bien puntos de referencia (4.8-5.6) que aseguran un producto de buena calidad, seguro y estable, controlando la acidez y la fermentación, lo cual es un indicador clave para el producto.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

c) Determinación de color instrumental

Según Salinas, y otros 2021. Indica que luminosidad (L*, 0 %= blanco, 100 %= negro), a* (verde en valores negativos y rojo en valores positivos), y b* (amarillo en valores positivos y azul en valores negativos). A partir de a* y b* se calcula el ángulo de tono o hue (h°) y el índice de saturación o croma (C*). Para ello se evaluó para cada uno de variables de color tal como se muestra en la figura 16 donde los resultados obtenidos fueron para Luminosidad (L*), (a*) y (b*) de las muestras analizadas para cada tratamiento del pan molde. En la figura 16 se muestra los valores de luminosidad que variaron de 40.90 a 49.86 que corresponden al tratamiento C y T1. De igual forma en la figura 17 se puede apreciar en cuanto los valores de a* también variaron de 12.75 a 18.67 que corresponde al tratamiento T3 y el tratamiento de menor intensidad fue T1, en el cual los valores de a* representan de color rojo en valores positivos. En la figura 18 se puede aprecia en cuanto los valores de b* variaron de 12.06 a 13.67 que corresponde al tratamiento T3 de igual forma el tratamiento de menor intensidad fue T1, en el cual los valores de b* representan de color amarillo en valores positivos. Estos valores fueron similares según Magan (2009), valores de los resultados obtenidos son similares a los reportados por Armando (2018), quien encontró un valor de b* de 10,38, indicando una tendencia al color amarillo, y un valor de a* de -0.93, que refleja una ligera tendencia al color verde. Asimismo, Matto (2009) reportó un valor de b* de 35.93 y de a* de 3.78, evidenciando una estos resultados evidencian que el pH del pan de molde se mantiene dentro de rangos similares marcada tonalidad amarilla y una ligera tendencia al color rojo. Por otro lado, Cruz et al. (2014) registraron valores de luminosidad (L*) entre 56.28 y 65.41, destacando las formulaciones con mayores niveles de luminosidad de 65.41 y 61.88. Estos resultados demuestran que los parámetros de color del pan están influenciados por los ingredientes incorporados en su formulación.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

5.3.4 Características sensoriales de pan de molde

a) Color

En la figura 18, se exhiben los valores obtenidos para el color del pan de molde que fueron aplicados con diferentes % de aceite esencial de cascara de naranja (0.5, 1 y 2 mL) y dos métodos de aplicación (directo y spray), incluido el control, analizados a las 48 horas de elaboración. Estos valores oscilaron entre 7.77 a 7.27 estos valores indican que las superficies externas y la corteza deben presentar un color amarillo rojizo, el cual deberá ser lo más uniforme posible por el horneo y en todo el perfil del pan de molde asimismo no debe presentar manchas debe tener brillo. Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Velásquez et al. (2017), quienes encontraron que los tratamientos con 5.1 % de harina de alcachofa y 6.8 % de harina de soya, así como 6 % de harina de alcachofa y 4 % de harina de soya, presentaron la mayor aceptación sensorial por parte de los panelistas. Asimismo, Torres (2024) señala que durante el almacenamiento del pan ocurre un oscurecimiento progresivo de la miga asociado a la pérdida de frescura y al incremento de la dureza. Por otro lado, Moreno Rojo (2017) indica que el color es un atributo determinante en la aceptación comercial del pan de molde, ya que depende de las materias primas utilizadas y de las condiciones de horneado. En la presente investigación, el pan presentó un color uniforme, una corteza suave y delgada, características que contribuyeron a su buena aceptación por parte de los panelistas**.**

b) Olor

Se exhiben los valores obtenidos para el olor del pan de molde que fueron aplicados con diferentes % de aceite esencial de cascara de naranja (0.5, 1 y 2 mL) y dos métodos de aplicación (directo y spray), incluido el control, analizados a las 48 horas de elaboración. Los valores fluctuaron entre 7.57 a 6.83 en cuanto el olor del pan de molde donde el tratamiento C (control) sin ninguna aplicación de AEN presenta con mayor agradable por otro lado (Moreno Rojo, 2017) en los resultados de los ensayos 3 (6.5 % de harina de cáscara de mango y 88 ppm de ácido ascórbico) y 5 (5 % de harina de cáscara de mango y 60 ppm de ácido ascórbico) como los que gozan de la mayor aceptación por parte de los panelistas. Al igual que Velásquez, y otros (2017) donde los ensayos 2 (0.9 % de harina de alcachofa y 6.9 % de harina de soya), 4 (5.1 % de harina de

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

alcachofa y 6.8 % de harina de soya) y 6 (6 % de harina de alcachofa y 4 % de harina de soya) como los que gozan de la mayor aceptación por parte de los panelistas. Estos valores indican que el pan de molde aplicado con AEN no presento ningún cambio estadísticamente ya que presento olor agradable, característico sin ningún amargo de igual forma aceptable en cuanto el olor según los panelistas.

c) Textura

se exhiben los valores obtenidos para el color del pan de molde que fueron aplicados con diferentes % de aceite esencial de cascara de naranja (0.5, 1 y 2 mL) y dos métodos de aplicación (directo y spray), incluido el control, analizados a las 48 horas de elaboración. Los promedios de los tratamientos variaron de 7.17 a 6.63 de textura del pan de molde donde el tratamiento T1 presenta con mejor textura. Los resultados obtenidos coinciden con los reportados por Peralta (2017), quien indicó que el 72 % de los panelistas calificó como buena la textura del pan, señalando además que esta característica está influenciada por la intensidad del sabor de los aceites esenciales. Asimismo, destacó que un adecuado proceso de fermentación y un horneado a 170 °C durante 17 minutos contribuyen a mejorar las características sensoriales del producto. Por otro lado, Moreno Rojo (2017) encontró que los tratamientos con 6,5 % de harina de cáscara de mango y 88 ppm de ácido ascórbico, así como 5 % de harina de cáscara de mango y 60 ppm de ácido ascórbico, presentaron la mayor aceptación por parte de los panelistas. De manera similar, Velásquez et al. (2017) reportaron una mayor preferencia por los tratamientos con 0,9 % de harina de alcachofa y 6,9 % de harina de soya, 5,1 % de harina de alcachofa y 6,8 % de harina de soya, y 6 % de harina de alcachofa y 4 % de harina de soya. Estos antecedentes respaldan los resultados obtenidos en la presente investigación, donde la textura y el sabor del pan presentaron una adecuada aceptación sensorial por parte de los evaluadores. De acuerdo a los resultados obtenidos indican que el pan de molde aplicado con AEN no presento ningún cambio estadísticamente debido a que presento una textura de sensación al tacto, suave, firme sin desmoronarse de igual forma aceptable en cuanto la textura según los panelistas.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

d) Sabor

se exhiben los valores obtenidos para el color del pan de molde que fueron aplicados con diferentes % de aceite esencial de cascara de naranja (0.5, 1 y 2mL) y dos métodos de aplicación (directo y spray), incluido el control, analizados a las 48 horas de elaboración. Los valores variaron entre 7.27 a 6.33 del sabor del pan de molde, donde el tratamiento T1 (aplicado con AEN de 0.5 ml por el método directo) presenta con mayor agradable estos valores son similares a los reportados por Peralta (2017), quien señaló que el 67 % de los panelistas consideró que el sabor del pan era bueno, siendo la formulación con canela la de mayor aceptación. No obstante, indicó que el aceite esencial de orégano generó un sabor amargo y el de canela una sensación picante. Asimismo, Moreno Rojo (2017) encontró que el tratamiento con 5 % de harina de cáscara de mango y 60 ppm de ácido ascórbico presentó la mayor aceptación sensorial. De igual manera, Velásquez et al. (2017) reportaron una mayor preferencia por los tratamientos con 0.9 % de harina de alcachofa y 6.9 % de harina de soya, 5.1 % de harina de alcachofa y 6.8 % de harina de soya, y 6 % de harina de alcachofa y 4 % de harina de soya. Estos antecedentes respaldan los resultados de la presente investigación, donde el sabor del pan de molde presentó una adecuada aceptación por parte de los panelistas.

De acuerdo a los resultados obtenidos indican que el pan de molde aplicado con AEN no presento ningún cambio estadísticamente debido a que presento un sabor agradable, característico sin ninguna acidez de igual forma aceptable en cuanto el sabor según los panelistas.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

CAPITULO VI
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos del presente trabajo de investigación, se tienen las siguientes conclusiones:

- Se logró determinar las proporciones de aceite esencial de cascara de naranja de efecto antifúngico sobre *Penicillium sp.* y *Rhizopus sp*. En el cual se determinó que el 0.5 % AEN es más efectivo contra los dos mohos. Así mismo se presentó diferencia significativa ($p < 0.05$) en los tratamientos

- Las características microbiológicas el aceite esencial de cáscara de naranja presentó efecto antifúngico frente a *Penicillium sp* y *Rhizopus sp*. en el pan de molde. El método directo, especialmente en concentraciones de 1 mL y 2 mL, fue el más efectivo, ya que no presentó crecimiento de mohos durante los siete días de evaluación y permitió conservar el producto hasta por 23 días.

- La evaluación de las características fisicoquímicas del pan de molde (humedad, pH y color instrumental) evidenció diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$). El contenido de humedad presentó valores entre 16.75 % y 22.2 %. Asimismo, el pH varió de 5.79 a 5.95. En cuanto al color instrumental, los valores de luminosidad (L*) oscilaron entre 40.90 y 49.86, mientras que los parámetros a* y b* variaron de 12.75 a 18.67 y de 12.06 a 13.67, respectivamente.

- Las características sensoriales (Color, Olor, Textura y Sabor) de los tratamientos del pan de molde aplicado con aceite esencial, no se encontraron diferencias significativas para los valores de ($p > 0.05$) en todas las variables. Donde los valores de Color fueron 7.77 del tratamiento T1, los valores de Olor de 7.57 a 6.83 del pan de molde donde el tratamiento C, la Textura del pan de molde 7.17 del tratamiento T1 y así mismo el Sabor del pan de molde fueron 7.27 del tratamiento T1.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

6.2 Recomendación

- Se recomienda utilizar equipos de mayor capacidad para la extracción de aceites esenciales para el método de arrastre de vapor, debido a que un mayor volumen de muestra permite obtener mejor rendimiento y eficiencia en la extracción.

- Se recomienda realizar el análisis microbiológico después de los siete días de almacenamiento, con la finalidad de evaluar adecuadamente la efectividad antifúngica del aceite esencial de naranja frente a los mohos. Esto se debe a que, durante las primeras 24 horas posteriores al horneado, las altas temperaturas reducen significativamente la presencia y actividad de los microorganismos.

- Se recomienda efectuar los análisis fisicoquímicos y sensoriales en los primeros días posteriores a la elaboración del pan de molde, con el propósito de conservar adecuadamente las características de textura, humedad y aceptabilidad sensorial del producto.

- De acuerdo con los resultados obtenidos, se recomienda utilizar el método de aplicación directa del aceite esencial de cáscara de naranja en concentraciones de 1 mL y 2 mL, debido a que presentó mayor efectividad en la inhibición del crecimiento de mohos como *Penicillium sp. y Rhizopus sp.*

- Asimismo, se recomienda realizar un análisis bromatológico del pan de molde tratado con aceite esencial, con la finalidad de determinar su composición nutricional y proporcionar información relevante al consumidor.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A., T. 2001. Frutales de clima frio moderado. Corpoica regional. colombia: centro de investigacion.

AHMAD, R. Z., & BACHTAR BAKRIE, E. K. 2023. Prueba de actividad inhibitoria de aceites esenciales de pomelo, naranja dulce y lima Peeling contra el crecimiento de hongos patógenos como antifúngico en ingredientes de piensos para animales.

AMIT KUMAR TYAGI, A. M. 2012. Vapor de aceites esenciales e iones negativos del aire: una novedosa herramienta para la conservación de alimentos. India: https://www.sciencedirect.com/journal/trends-in-food-science-and-technology.

ARMANDO, F. L. 2018. "influencia de la adicion de harina de cáscarade maracuyá (pasiflora edulis), variedad flavicarpa y ácido ascórbico sobre las características tecnológicas del pan de molde". nuevo chimbote – peru: universidad nacional del santa universidad nacional del santa - escuela académico profesional de ingeniería agroindustrial.

BADUI, S. 1994. Química de los alimentos. Mexico: Edit. Alhambra , S.A.

BALAREZO, P. 2011. Evaluación del uso de propionato de calcio y sorbato de potasio en la estabilidad del pan precocido almacenado en refrigeración, para su comercialización en supermercados.

BAROTY, G., ABD BAKY, H., FARAG, R., & SALEH. 2010. Caracterización de compuestos antioxidantes y antimicrobianos de aceites esenciales de canela y jengibre.africano J. Bioquímica.

BARZERGAR, H. O. 2007. Anfungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against Aspergillus flavus in liquid medium and tomato paste. food control, 5.

BELEN, R., & PERALTA, M. 2017. evaluacion del efecto antimicrobiana de los aceites esenciales de oregano y canel aen el pan integral. Peru-Lima.

BOUCHRA, C., ACHOURI, M., HASSANI, L., & HMAMOUCHI, M. 2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against. J Ethnopharmacology Botrytis cinerea Pers, 89, 165 – 169.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

BUKARI, Y., AVICOR, S. W., AINOOSON, M. K., ASARE, E. K., & AMOAKOATTAH, G. K. 2024. Potencial antifúngico del aceite esencial de naranja dulce en Patógenos de dos importantes enfermedades del cacao en Ghana.

CASTELLANOS, A. V. 2020. Estudio de aplicacion de cinco aceites esenciales como conservantes naturales en la industrial de bebidas no alcoholicas. Peru-LIma: Udla. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against. (s.f.).

CISAROVA, M. 2019. El efecto in vitro e in situ de aceites esenciales seleccionados en fase de vapor contra el aspergilli toxicogénico que deteriora el pan. República Eslovaca: revista Página de inicio:www.elsevier.com/locate/foodcont.

CRUZ, P. D., & MENDOZA, D. H. 2014. "evaluación fisicoquímica y nutricional de un pan de molde enriquecido con arracacha (arracacia xanthorrhiza) y ajonjolí (sesamun lndicum) para niños en edad escolar". nuevo chimbote- perú: escuela académico profesional de ingeniería agroindustrial - uns.

CUTTER, C. N. 2000. Antimicrobial effect of herb extracts against Escherichia coli.

DANNENBERG, E. B. 2019. Actividad antibacteriana, propiedades ópticas, mecánicas y de barrera de películas de almidón de maíz con aceite esencial de naranja.

DE LOS ÁNGELES, M. L. 2003. Extracción del aceite esencial de mandarina (citrus reticulata) utilizando dióxido de carbono en condición supercrítica como solvente. Venezuela, Caracas.

DIAZ, R. 2005. Hidroextracción y fraccionamiento del aceite esencial de cáscara de naranja. Peru- Lima : Tesis, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

DRAGOVI; THOMAS, DIPPONG VERICA. 2023. Determinación de la actividad antifúngica, antibacteriana y Composición de compuestos volátiles de la cáscara de Citrus bergamia Aceite esencial. Alimentos 2023, 12, 203(https://doi.org/10.3390/foods12010203).

DEBONNE, E., BOCKSTAELE, F. VAN, SAMAPUNDO, S., EECKHOUT, M., DEVLIEGHERE, F., DEBONNE, E., … EECKHOUT, M. 2018. El uso de aceites esenciales como conservantes antifúngicos naturales en productos de pan ., 2905. doi:10.1080/10412905.2018.1486239

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

EFSA, J. 2014. Scientific opinion on the safety and efficacy of sorbic acid and potassium sorbate when used as technological additives for all animal specie. EFSA 1-18.

ERARSLA NUR, CEBI AZIME. 2023. Determinación de la actividad antifúngica, antibacteriana y Composición de compuestos volátiles de la cáscara de Citrus bergamia Aceite esencial. Zuisa: Licencia de atribución (CC BY).

FIERRO, J. J. 2010. Estudio de vida útil del pan molde blanco. Escuela superior politécnica del litoral.

FLORES TIQUE, L. Y. 2017. Evaluación del efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (Origanum vulgare) aplicado en el pan molde en microencapsulado y pulverizado. Lima - Peru: Tesis de Licenciatura. Universidad Peruana Unión.

FLORES-TIQUE, Y. 2017. Evaluación del efecto antimicrobiano del aceite esencial de . Universidad Peruana Unión, Lima: Tesis de pregrado.

GOULD, G. 1996. Methods for preservation and extension of shelf life. international-journal-of-food-microbiology, páginas 51-64.

HERNÁNDEZ, J. A. 2011. Efecto del propionato de calcio y biocitro sobre el crecimiento de mohos en el pan de molde blanco. Universidad Nacional Del Callao, 1, 15. Retrieved fromhttp://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/UNAC/429/T.664.H43.pdf?sequence=1&isAllowed=y

HORNA SALDAÑA, C. J. 2015. Estudio comparativo y evaluación del rendimiento de dos tecnologías de extracción de aceites . Peru: universidad esan, facultad de ingeniería.

INACAL, D. d. 2018. NORMAS TECNICAS PERUANAS. Lima- Peru: NTP 206.011.

JEFFERSON, A. 1973. Extracción de aceites esenciales de naranja. Peru- Lima: Tesis- Universidad Nacional Agraria La Molina.

LEMOS, G. S., VITORIA, J. S., FONSECA, L. M., PIRE, J. B., DASILVA, F. T., SIEBENEICHLER, T. J., . . . ZAVAREZE, E. D. 2025. Envases alimentarios activos para la conservación de pasteles: Potencial antifúngico de películas biodegradables de almidón de frijol con aceite esencial de cáscara de naranja.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

LIMA, J., CRISTINA, C., MESIAS, A. O., SOUSA, L., NETO, F. V., & MIRANDA, E. 2020. Potencial antifúngico de los aceites esenciales de dos variedades de Citrus sinensis (naranja lima y naranja navel bahía) en el control poscosecha de Rhizopus stolonifer (Ehrenb.: Fr.) Vuill.

LUKACON PAM, J. M. 2020. Elin vitro y en el lugar Efecto de aceites esenciales seleccionados en fase vapor contra el deterioro del pan por Aspergilli toxicogénico. epública Checa: revista Página de inicio:www.elsevier.com/locate/foodcont.

MAGAN, A. H. 2009. Influence of environmental factors on growth, sporulation and ochratoxin A and B production of the new grouping of the A. ochraceus group. World Mycotoxin Journal,.

MAHANTESH, K. B. 2021. Impacto de los hongos solubilizadores de potasio como biopesticidas y su papel en la mejora de los cultivos. (Vol. Agentes de biocontrol y metabolitos secundarios). India: ScienceDirect.

MARAVI, G. 2012. Efecto antimicrobiano y antifungico del aceite eencial de mentha piperita (menta), Origanum vulgare (oregano) y Cymbopongo citratus (hierba luisa) sobre Streptococcus mutans, Lactobacillus acidophilus, Candida albicans. Peru - Lima: Tesis.

MALATHY, S., PERIYAR SELVAM, S., & SADIKU, E. R. 2023. Evaluation of Quality and Shelf-Life Extension of Pita Bread Prepared with Clove Essential. Food Science and Technology (United States), 11(3), 133–144. doi:10.13189/fst.2023.110301

MINSA. 2010. Norma Sanitaria para la Fabricación, Elaboración y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería . LIMA - PERU: Dirección General de Salud Ambiental del Ministerio de Salud .

MORENO ROJO, C. 2017. “influencia de la adición de harina de cáscara de mango (mangifera indica l.), variedad kent y ácido ascórbico sobre las características tecnológicas del pan de molde". nuevo chimbote – perú: universidad nacional del santa - escuela de postgrado.

MORENO, Y. S.-R. 2021. Evaluación de dos procedimientos de medición de color en granos de maíces pigmentados.

OWLIA, R. M. 2005. Chemoprevention by thyme oils of Aspergillus parasiticus growth and aflatoxin production. Mexico: Revista Mexicana de fitopatologia.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

PANDA, V. 2005. Gestion de la Produccion y Operaciones.

PERALTA, M. B. 2017. Evaluacion del efecto antimicrobiano de los aceite esenciales de oregano y canela en el pan integral. Peru: Facultad de ingenieria y ciencias agropecuarias.

PEREIRA, S. M., GUIMARÃES, K., & SANTOS, M. M. 2025. Mejorar la vida útil del pan integral mediante el uso de Mezclas de aceites esenciales de canela, clavo y laurel.

PEZO, G. P. 2000. "Extracción de aceite esencial a partir de cáscara de · naranja Valencia (Citrus sinensis) por dos métodos Arrastre de vapor y solvente orgánico.".

PILCO QUESADA, S., QUITO VIDAL, M., & QUISPE CONDORI, S. 2009. Conservación de Pan Artesanal Ezequiel y Pan Superbueno Usando Aceite Esencial de clavo de olor (Eugenia caryophillus). Revista de Investigacion Universitaria, 14-16.

QUISPE-CONDORI, M. Q. V. P. Q. S. S. (2009). Conservación de Pan Artesanal Ezequiel y Pan Superbueno Usando Aceite Esencial de Clavo de Olor (Eugenia caryophillus). Revista Universitaria.

QUIROZ, W. 2013. Extraccion por solvente. Ecuador: Tesis.

REÁTEGUI, D. 2005. Hidroextracción y fraccionamiento del aceite esencial de cáscara. Peru.

RUIZ, M. C. 2005. “Efecto antifúngico del aceite esencial de orégano mexicano (Lippia berlandieri Schauer) en un producto de panadería”. Chihuahua: Facultad de Ciencias Químicas.

SALINAS, M. Y., DÍAZ, J. L., TORRE, I. A., & BAUTISTA, R. E. 2021. Evaluación de dos procedimientos de medición de color en granos de maíces pigmentados.

SEGURA, R. S. 2018. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de Origanum vulgare L. Orégano peruano” frente a Staphylococcus aureus”. Peru- Lima: escuela académico profesional de farmacia y bioquímica.

SALDAÑA, H., & PASELI, C. J. 2015. Estudio comparativo y evaluación del rendimiento de dos tecnologías de extracción de aceites esenciales de naranja , mandarina y tangelo . Trabajo de Investigación para optar el Título de Ingeniero Industrial y Comercial que presenta

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

SILVEIRA, M. P., MOREIRA, K. G., & SANTOS, M. A. 2025. Mejorar la vida útil del pan integral mediante el uso de Mezclas de aceites esenciales de canela, clavo y laurel. Brasil: Química y Biodiversidad publicado por WileyVHCA AG.

TALAVERA, R. M. 2015. aplicación de recubrimientos a base de antimicrobianos naturales para la mejora de la conservación de pan. valencia: escuela técnica superior de ingeniería agronómica y del medio natural.

TIQUE, L. Y. 2017. Evaluación del efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (Origanum vulgare) aplicado en el pan molde en microencapsulado y pulverizado. lima- peru: universidad peruana unión facultad de ingeniería y arquitecturA- Escuela Profesional de Ingeniería de Alimentos.

TORRES, A. T. 2024. "Vida de anaquel de pan de masa madre adicionado con Lactococcus lactis NRRL B-50307 y un recubrimiento activo conteniendo aceite esencial de canela" . C.U., Querétaro, Querétaro: Facultad de Química - Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos .

VARGAS, J. A. 2011. Efecto del propionato de calcio y biocitro sobre el crecimiento de mohos en el pan de molde blanco. Peru.

VELÁSQUEZ, P. M., & OBANDO, M. L. 2017. "efecto de la sustitución parcial de harina de trigo por harina de alcachofa y harina de soja en la elaboracion de pan de molde". Nuevo Chimbote - Peru.

VON, A. H. 2003. Estudio del mercado nacional de aceites esenciales. Biocomercio Sostenible, 85.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

ANEXOS

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo A

EVALUACIÓN ANTIFÚNGICO DE ACEITE ESENCIA IN VITRO EN RHIZUPOS *SPP*

Tabla 15 — Resultados de la evaluación del efecto antifúngico in vitro sobre R*hizopus* S*pp*. del aceite esencial

% AE	**Rhizopus**	**Incremento de crecimiento del cepa**							**Total**
		Días							UFC/mL
R1		1	2	3	4	5	6	7	10^{-3}
0.1 mg/ml	0	0	2	18	18	18	18	18	$18x10^{-3}$
0.1 mg/ml	0	0	1	28	28	28	28	28	$28x10^{-3}$
0.1mg/ml	0	0	6	22	22	23	23	23	$23x10^{-3}$
R2									
0.3 mg/ml	0	0	0	1	1	1	2	2	$2x10^{-3}$
0.3 mg/ml	0	0	0	16	16	16	16	16	$16x10^{-3}$
0.3 mg/ml	0	0	0	11	11	11	11	12	$12x10^{-3}$
R3									
0.5 mg/ml	0	0	0	0	0	0	0	1	$1x10^{-3}$
0.5 mg/ml	0	0	0	0	0	0	0	0	$x10^{-3}$
0.5 mg/ml	0	0	0	0	0	0	0	0	$x10^{-3}$
Control									
Control 1	0	0	23	31	34	-	-	-	Incontable 10^{-3}
Control 2	0	0	20	33	37	-	-	-	Incontable 10^{-3}
Observaciones:									

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

- Análisis de varianza

Tabla 16 — Anova para efecto antifúngico invtro sobre R*hizopus* S*pp*

FUENTE	GL	SC AJUST.	MC AJUST.	VALOR F	VALOR P
TRATAMIENTO	3	1202.75	400.92	33.14	0.000
ERROR	7	84.68	12.10		
TOTAL	10	1287.43			

Tabla 17 — Comparaciones en parejas de Tukey al 95%

TRATAMIENTO	N	MEDIA	D. ESTÁNDAR	G.HOMOG.	F	P
C	2	29.667	0.471	a	33.14	0.000
T1	3	16.860	3.710	b		
T2	3	6.860	5.330	c		
T3	3	0.048	0.083	c		

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo B

EVALUACIÓN ANTIFÚNGICO DE ACEITE ESENCIA EN PENICILLIUM

Tabla 18 — Resultados de la evaluación del efecto antifúngico in vitro sobre *Penicillium* del aceite esencial

% AE	***Penicillium***	**Incremento de crecimiento del cepa**							**Total**
		Días							UFC/mL
R1		1	2	3	4	5	6	7	10^{-3}
0.1 mg/ml	0	0	0	-	-	-	-	-	10^{-3}
0.1 mg/ml	0	0	1	-	-	-	-	-	$1x10^{-3}$
0.1mg/ml	0	0	0	-	-	-	-	-	10^{-3}
R2									
0.3 mg/ml	0	0	0	0	0	0	2	2	$2x10^{-3}$
0.3 mg/ml	0	0	0	0	0	0	6	6	$6x10^{-3}$
0.3 mg/ml	0	0	0	0	0	0	0	0	10^{-3}
R3									
0.5 mg/ml	0	0	0	0	0	0	0	1	$1x10^{-3}$
0.5 mg/ml	0	0	0	0	0	0	0	0	10^{-3}
0.5 mg/ml	0	0	0	0	0	0	0	0	10^{-3}
Control									
Control 1	0	0		-	-	-	-	-	Incontable 10^{-3}
Control 2	0	0		-	-	-	-	-	Incontable 10^{-3}
Observaciones:									

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

- Análisis de varianza

Tabla 19 — Anova para efecto antifúngico invtro sobre *Penicillium* Spp.

FUENTE	GL	SC AJUST.	MC AJUST.	VALOR F	VALOR P
TRATAMIENTO	3	3913.58	1304.53	258.44	0.000
ERROR	7	35.33	5.05		
TOTAL	10	3948.91			

Tabla 20 — Comparaciones en parejas de Tukey al 95%

TRATAMIENTO	N	MEDIA	D. ESTÁNDAR	G.HOMOG.	F	P
C	2	50.000	0.000	a	258.44	0.000
T1	3	3.330	4.160	b		
T2	3	0.333	0.577	b		
T3	3	0.000	0.000	b		

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo C

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

- Análisis de varianza

Tabla 21 — Anova para análisis microbiológico

FUENTE	GL	SC AJUST.	MC AJUST.	VALOR F	VALOR P
TRATAMIENTO	6	57433.8	9572.30	9572.30	0.000
ERROR	14	14.0	1.00		
TOTAL	20	57447.8			

Tabla 22 — Comparaciones en parejas de Tukey al 95%

TRATAMIENTO	N	MEDIA	D. ESTÁNDAR	G.HOMOG.	F	P
C	3	150.000	0.000	a	9572.3	0.000
T1	3	0.333	0.577	b		
T2	3	0.000	0.000	b		
T3	3	0.000	0.000	b		
T4	3	1.333	1.528	b		
T5	3	1.000	1.730	b		
T6	3	0.667	1.155	b		

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo D

ANALIS DE VARIANZA PARA DETERMINAR LAS CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS

- Análisis de varianza

Tabla 23 — Anova para humedad

FUENTE	GL	SC AJUST.	MC AJUST.	VALOR F	VALOR P
TRATAMIENTOS	6	62.05	10.341	4.68	0.008
ERROR	14	30.96	2.211		
TOTAL	20	93.00			

Tabla 24 — Comparaciones en parejas de Tukey al 95%

TRATAMIENTO	N	MEDIA	D. ESTÁNDAR	G.HOMOG.	F	P
C	3	19.426	0.594	ab	4.68	0.008
T1	3	17.720	0.277	b		
T2	3	16.669	1.638	b		
T3	3	18.980	1.596	ab		
T4	3	22.250	3.01	a		
T5	3	20.579	0.704	ab		
T6	3	20.257	0.505	ab		

- Análisis de varianza

Tabla 25 — Anova para Potencial de Hidrógeno (pH)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTO	6	0.05351	0.008919	10.18	0.000
Error	14	0.01227	0.000876		
Total	20	0.06578			

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Tabla 26 — Comparaciones en parejas de Tukey al 95%

TRATAMIENTO	N	MEDIA	D. ESTÁNDAR	G.HOMOG.	F	P
C	3	5.790	0.02	c	10.18	0.000
T1	3	5.947	0.01155	a		
T2	3	5.867	0.0252	abc		
T3	3	5.887	0.0306	ab		
T4	3	5.890	0.0608	ab		
T5	3	5.820	0.01	bc		
T6	3	5.813	0.01528	bc		

- Análisis de varianza

Tabla 27 — Anova para Color instrumental para L

FUENTE	GL	SC AJUST.	MC AJUST.	VALOR F	VALOR P
TRATAMIENTO	6	1041.7	173.609	18.44	0.000
ERROR	98	922.9	9.417		
TOTAL	104	1964.5			

Tabla 28 — Comparaciones en parejas de Tukey al 95%

TRATAMIENTO	N	MEDIA	AGRUPACIÓN
C	15	49.860	a
T6	15	49.454	a
T5	15	45.580	b
T3	15	44.693	b c
T4	15	44.249	b c d
T2	15	42.066	c d
T1	15	40.896	d

- Análisis de varianza

Tabla 29 — Anova para Color instrumental para a

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTO	6	562.5	93.750	32.93	0.000
Error	98	279.0	2.847		
Total	104	841.5			

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Tabla 30 — Comparaciones en parejas de Tukey al 95%

TRATAMIENTO	N	MEDIA	AGRUPACIÓN
T3	15	18.667	a
T4	15	17.988	a b
T2	15	17.301	a b
T5	15	16.473	b
C	15	13.393	c
T6	15	13.194	c
T1	15	12.750	c

- Análisis de varianza

Tabla 31 — Anova para Color instrumental para b

FUENTE	GL	SC AJUST.	MC AJUST.	VALOR F	VALOR P
TRATAMIENTO	6	22.96	3.8269	4.93	0.000
ERROR	98	76.00	0.7755		
TOTAL	104	98.96			

Tabla 32 — Comparaciones en parejas de Tukey al 95%

TRATAMIENTO	N	MEDIA	AGRUPACIÓN
T3	15	13.673	a
T4	15	13.373	a
T5	15	13.234	a
T2	15	13.061	a
T6	15	13.000	a b
C	15	12.909	a b
T1	15	12.059	b

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo E

ANALISIS DE VARIANZA PARA LAS CARACTERISTICAS SENSORIALES

Tabla 33 — Prueba de Friedman: color vs. tratamiento

TRATAMIENTO	N	Mediana Est.	Suma de clasificaciones
C	30	8.1429	130.5
T1	30	7.9286	128.5
T2	30	8.0000	123.5
T3	30	7.7857	119.0
T4	30	7.5714	112.0
T5	30	7.5714	104.0
T6	30	8.0000	122.5

S = 3.73 GL = 6 P = 0.713

S = 4.21 GL = 6 P = 0.648 (ajustados para los vínculos)

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas mayor a 0.05, no se puede rechazar la idea de que el color del pan de molde proviene de una distribución no normal con 95% de confianza.

Tabla 34 — Prueba de Friedman: olor vs. tratamiento

TRATAMIENTO	N	Est. Mediana	Suma de Clasificaciones
C	30	7.2500	132.5
T1	30	7.3214	139.0
T2	30	7.2500	127.0
T3	30	7.0357	113.5
T4	30	7.0357	113.0
T5	30	6.8929	103.5
T6	30	6.9643	111.5

S = 7.16 GL = 6 P = 0.307

S = 8.33 GL = 6 P = 0.215 (ajustados para los vínculos)

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas mayor a 0.05, no se puede rechazar la idea de que el olor del pan de molde proviene de una distribución no normal con 95% de confianza.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Tabla 35 — Prueba de Friedman: textura vs. tratamiento

TRATAMIENTO	N	Mediana Est.	Suma de clasificaciones
C	30	6.9286	118.0
T1	30	7.5714	139.0
T2	30	6.7143	108.5
T3	30	7.0714	124.5
T4	30	6.7857	111.0
T5	30	7.0000	123.0
T6	30	6.9286	116.0

S = 4.45 GL = 6 P = 0.616

S = 4.97 GL = 6 P = 0.548 (ajustados para los vínculos)

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas mayor a 0.05, no se puede rechazar la idea de que la textura del pan de molde proviene de una distribución no normal con 95% de confianza.

Tabla 36 — Prueba de Friedman: sabor vs. tratamiento

TRATAMIENTO	N	Mediana Est.	Suma de clasificaciones
C	30	7.0000	124.0
T1	30	7.0714	131.0
T2	30	7.0000	121.5
T3	30	6.8571	124.0
T4	30	6.7143	117.5
T5	30	6.3571	100.0
T6	30	7.0000	122.0

S = 4.04 GL = 6 P = 0.671

S = 4.57 GL = 6 P = 0.600 (ajustados para los vínculos)

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas mayor a 0.05, no se puede rechazar la idea de que el Sabor del pan de molde proviene de una distribución no normal con 95% de confianza.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo F

PRUEBA DE NORMALIDAD IN VITRO EN P*ENICILLIUM*

F.1 Curva de Prueba de normalidad in vitro en P*enicilllium sp.*

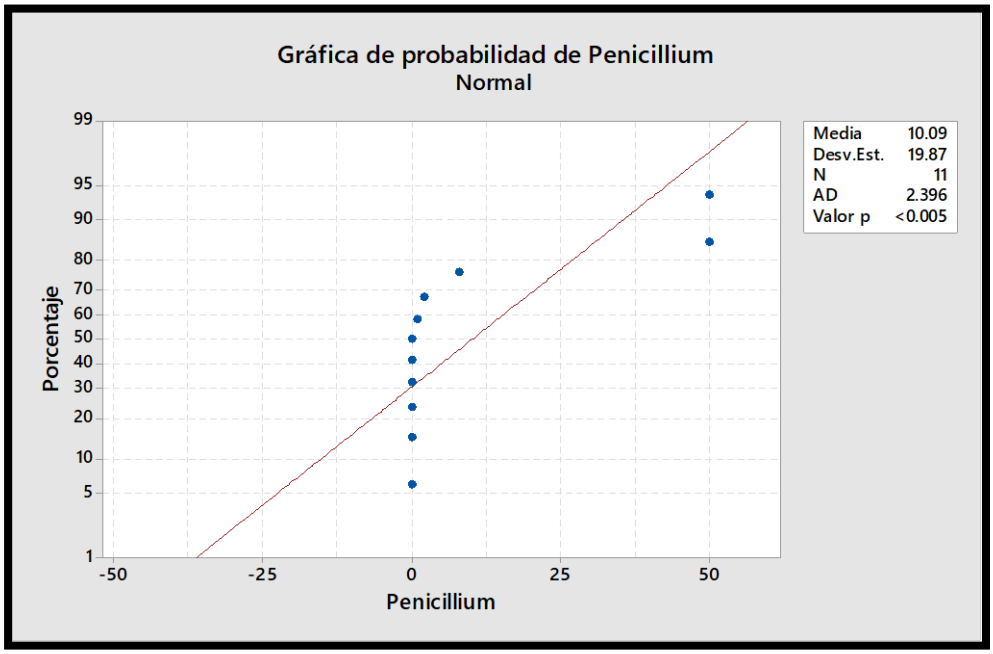


Figura 22 — Curva de Prueba de normalidad in vitro en P*enicilllium sp.*

F.2 Histograma de Prueba de normalidad in vitro en P*enicilllium sp*

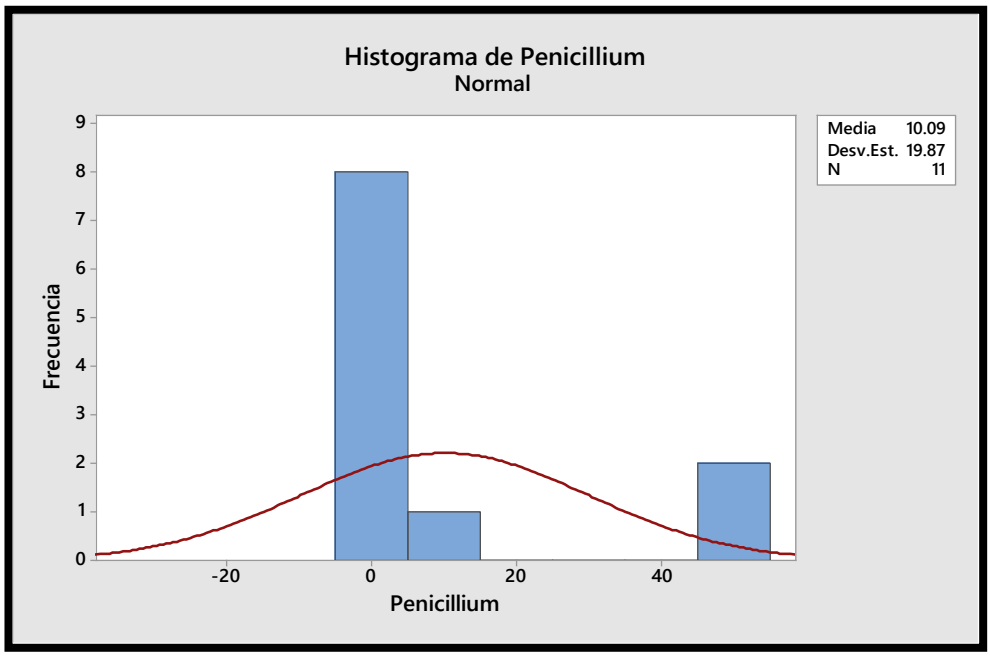


Figura 23 — Histograma de Prueba de normalidad in vitro en *Penicilllium*

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo G

PRUEBA DE NORMALIDAD IN VITRO EN R*HIZUPOS*

G.1 Curva de Prueba de normalidad in vitro en R*hizupos Sp*.

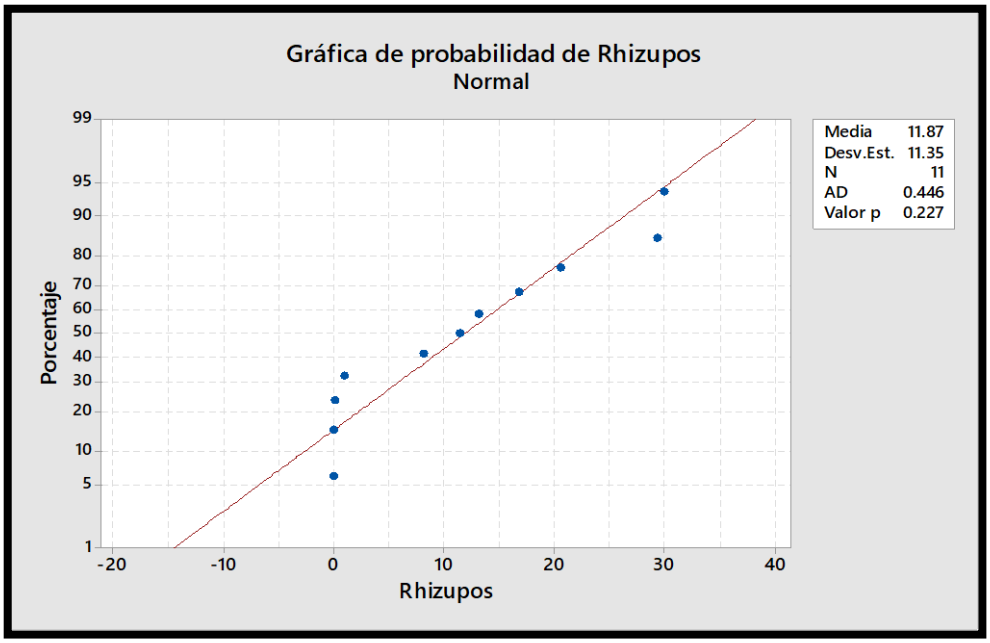


Figura 24 — Curva de Prueba de normalidad in vitro en R*hizupos*

G.2 Histograma de Prueba de normalidad in vitro en R*hizupos*

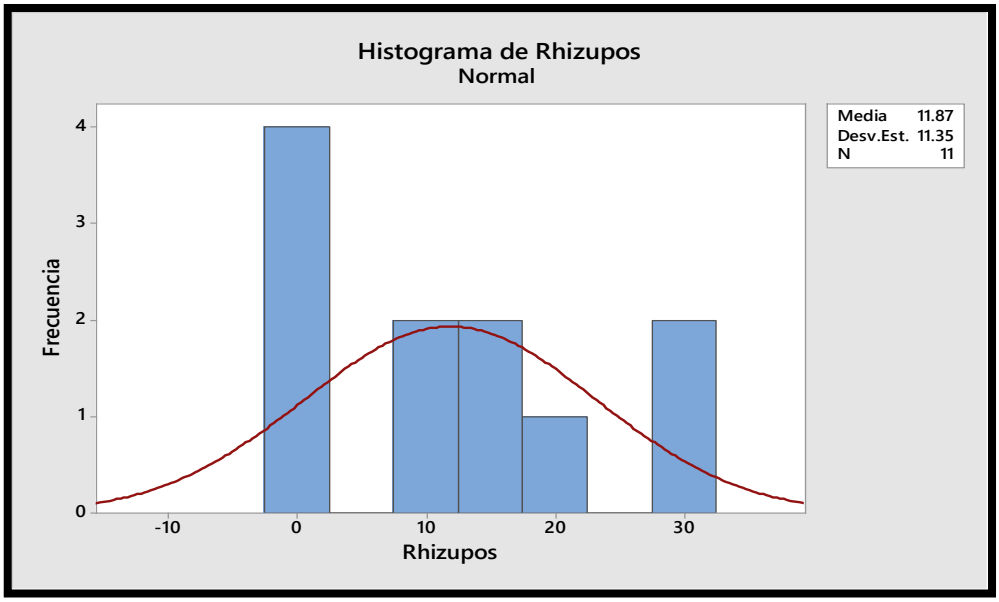


Figura 25 — Histograma de Prueba de normalidad in vitro en R*hizupos sp.*

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo H

PRUEBA DE NORMALIDAD PARA ANÁLISIS FISICOQUÍMICO

H.1 Curva de Pruebas de normalidad para Humedad

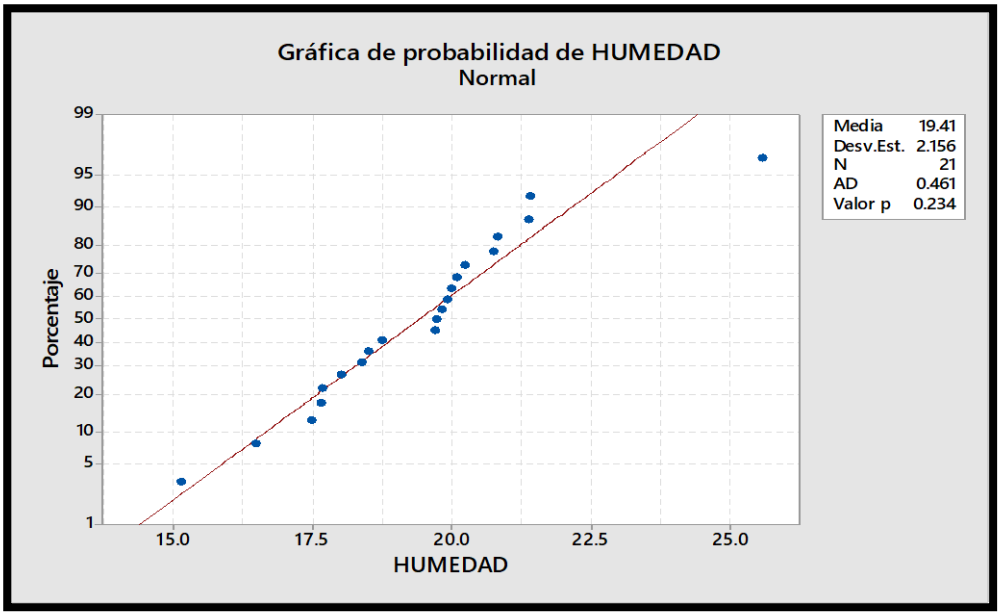


Figura 26 — Curva de Pruebas de normalidad para Humedad

H.2 Histograma de Pruebas de normalidad para Humedad

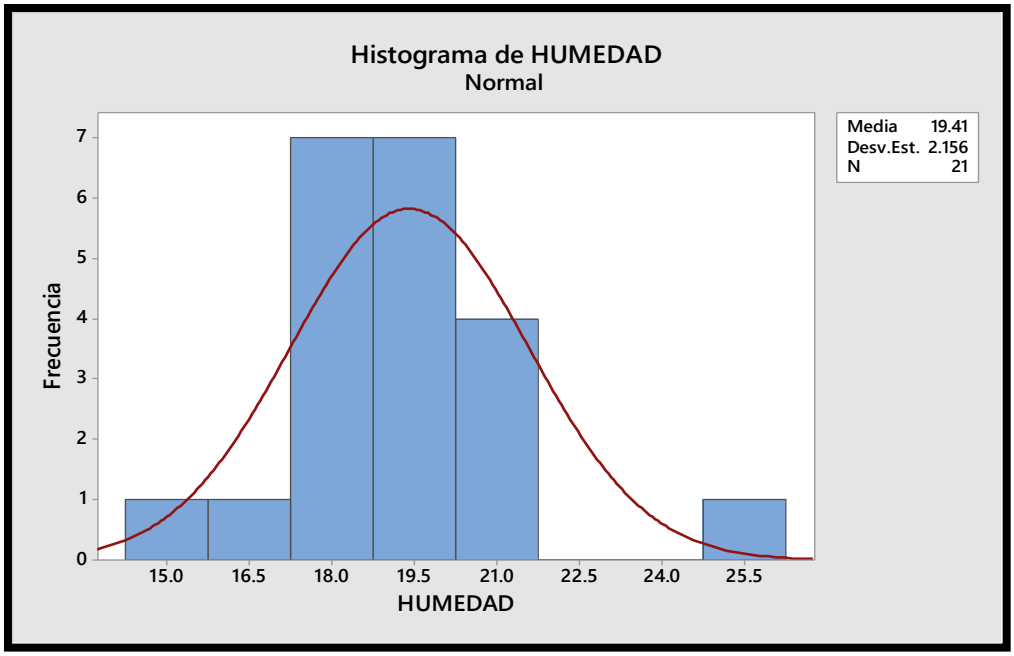


Figura 27 — Histograma de Pruebas de normalidad para Humedad

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo I

PRUEBAS DE NORMALIDAD PARA PH

I.1 Curva Pruebas de normalidad para pH

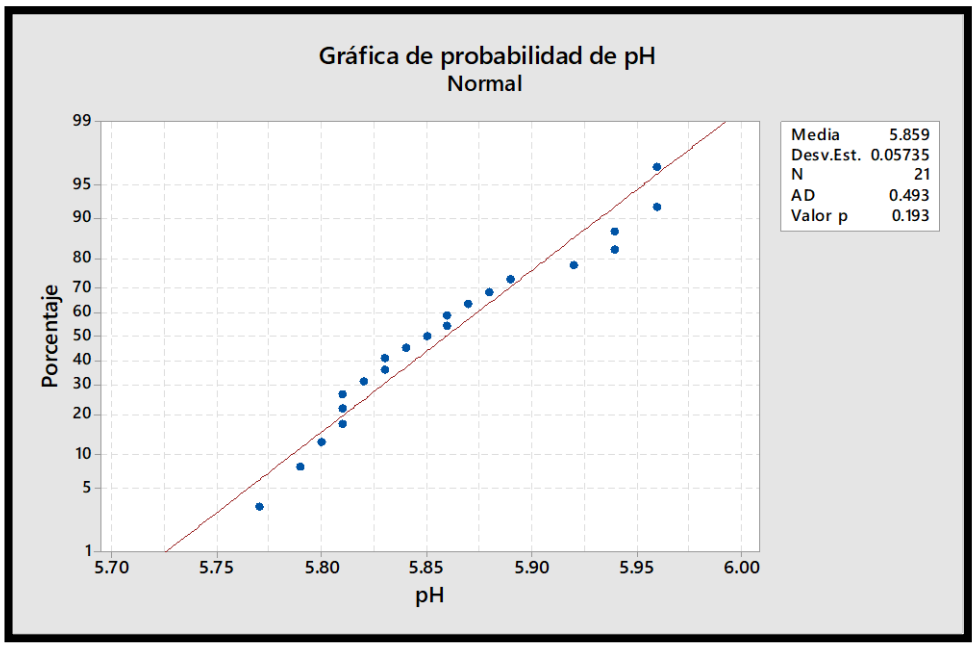


Figura 28 — Curva Pruebas de normalidad para pH

I.2 Histograma de Pruebas de normalidad para pH

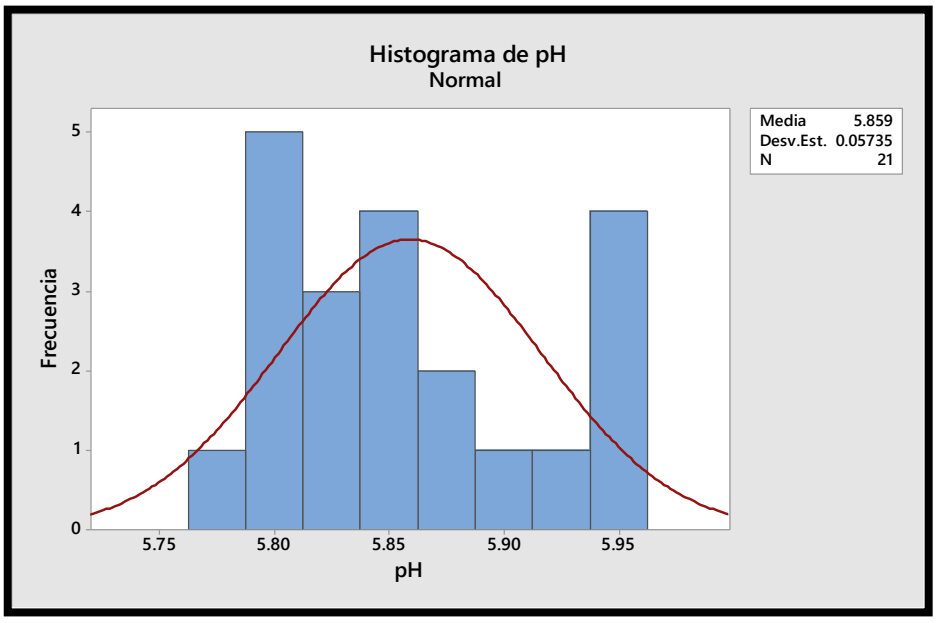


Figura 29 — Histograma de Pruebas de normalidad para pH

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo J

PRUEBAS DE NORMALIDAD PARA COLOR INSTRUMENTAL

J.1 Curva Pruebas de normalidad para L

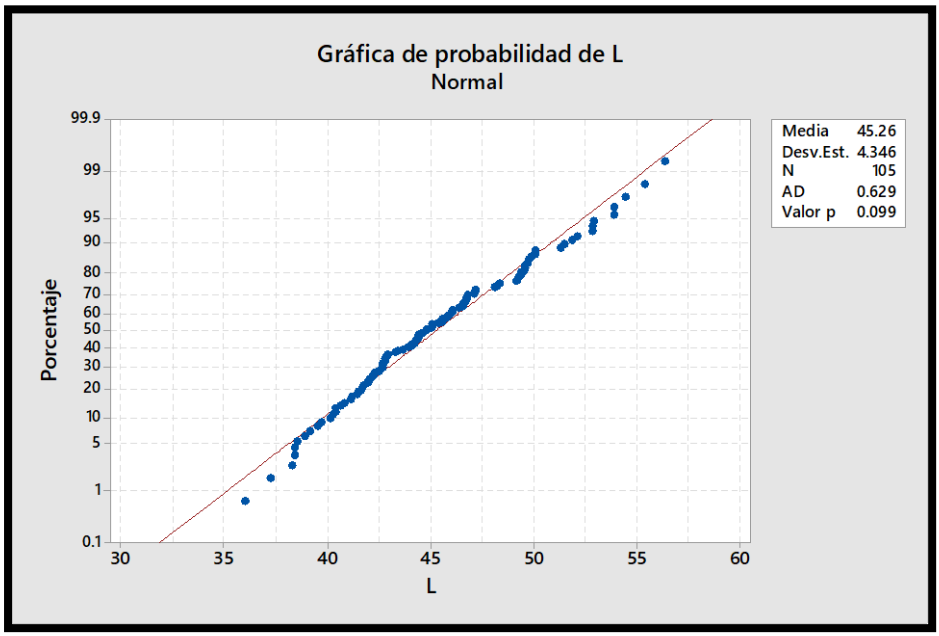


Figura 30 — Curva Pruebas de normalidad para L

J.2 Histograma de Pruebas de normalidad para L

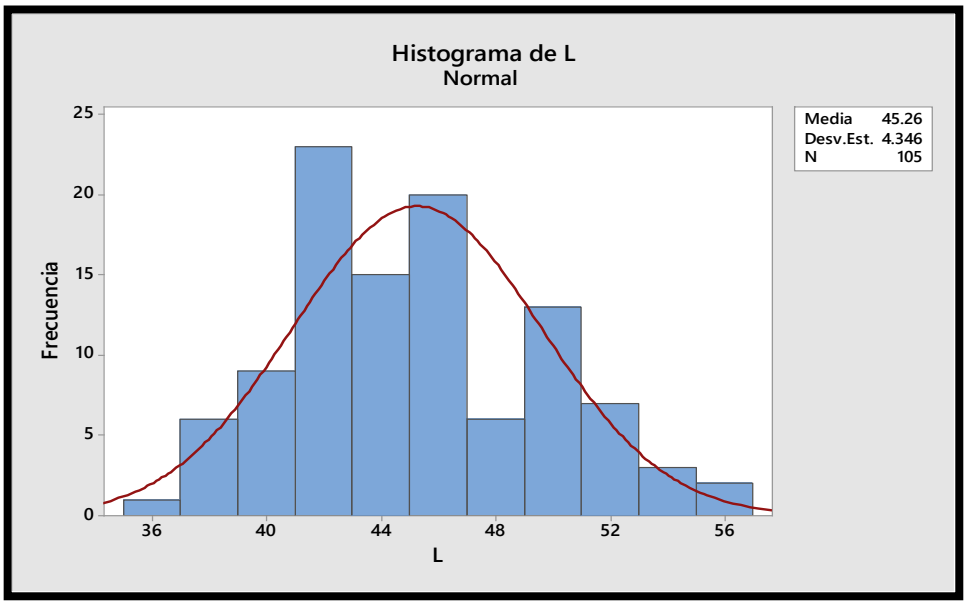


Figura 31 — Histograma de Pruebas de normalidad para L

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

J.3 Curva Pruebas de normalidad para a

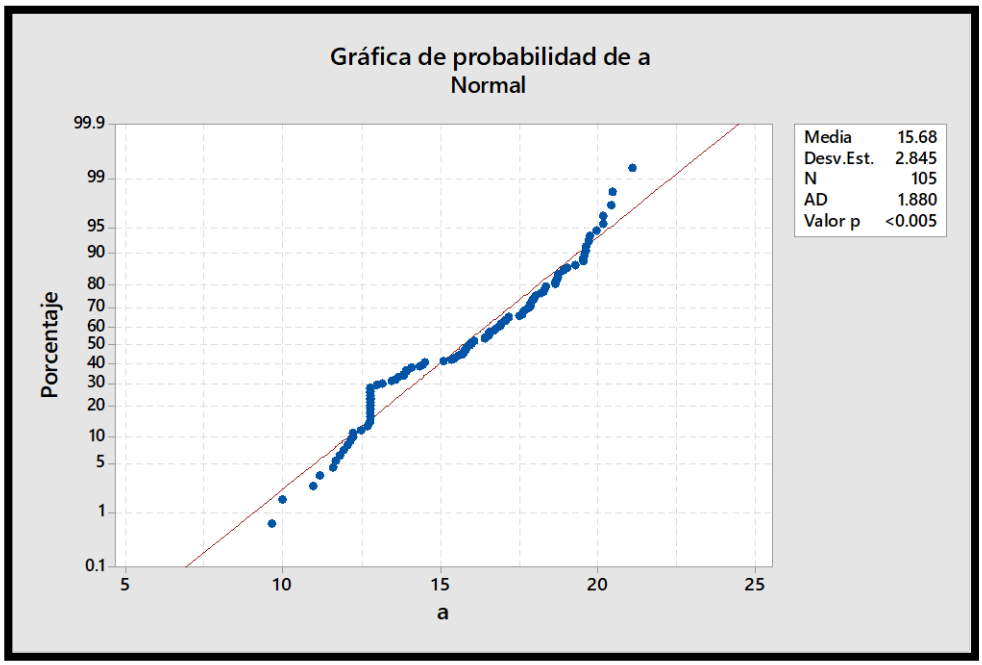


Figura 32— Curva Pruebas de normalidad para a

J.4 Histograma de Pruebas de normalidad para a

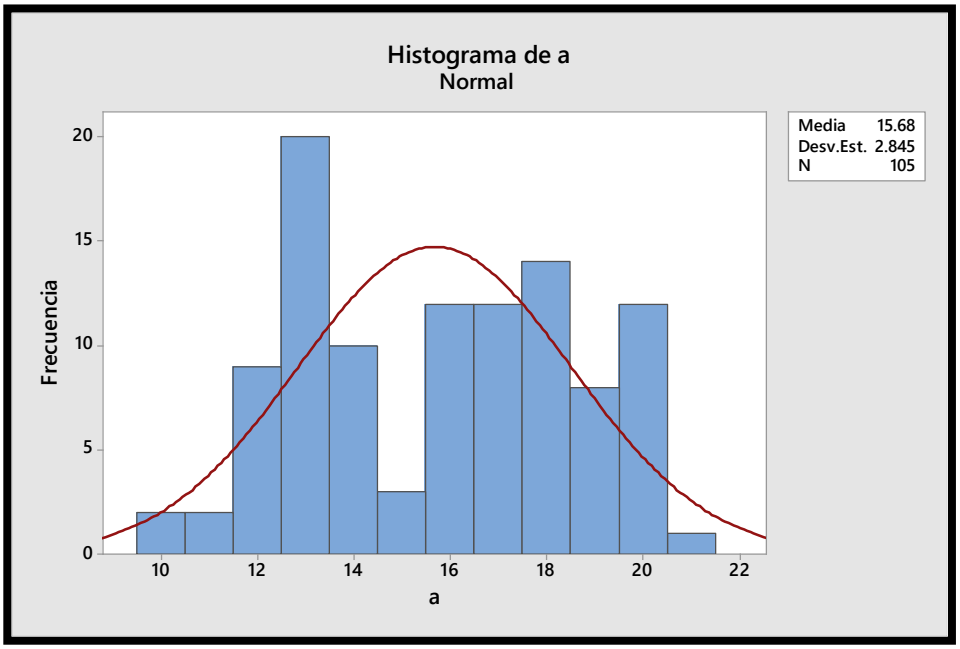


Figura 33 — Histograma de Pruebas de normalidad para

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

J.5 Curva Pruebas de normalidad para b

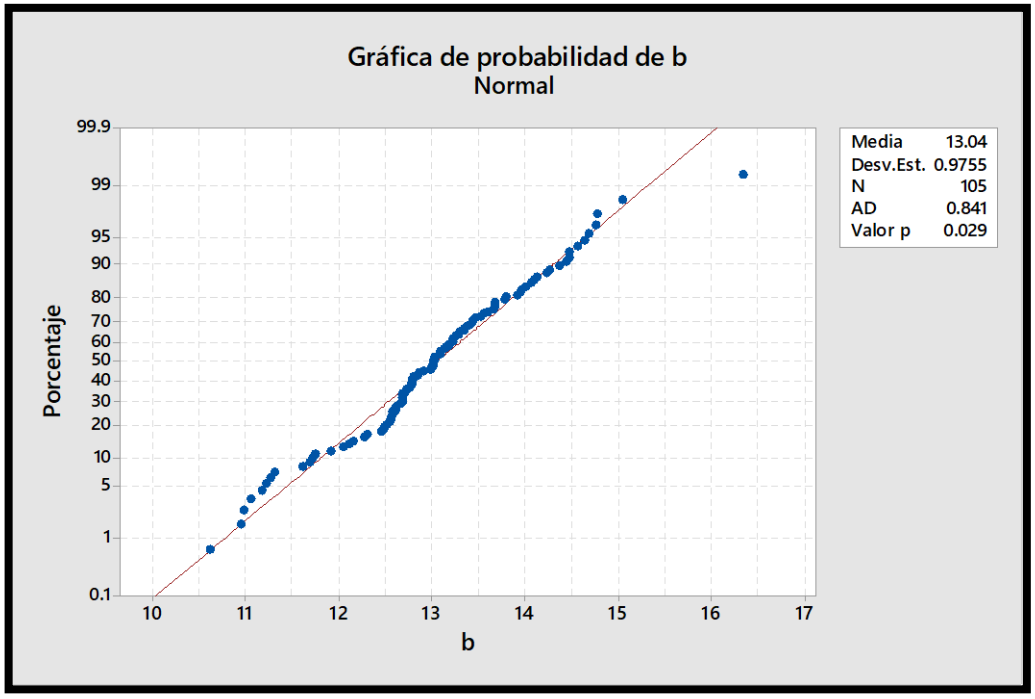


Figura 34 — Curva Pruebas de normalidad para b

J.6 Histograma de Pruebas de normalidad para b

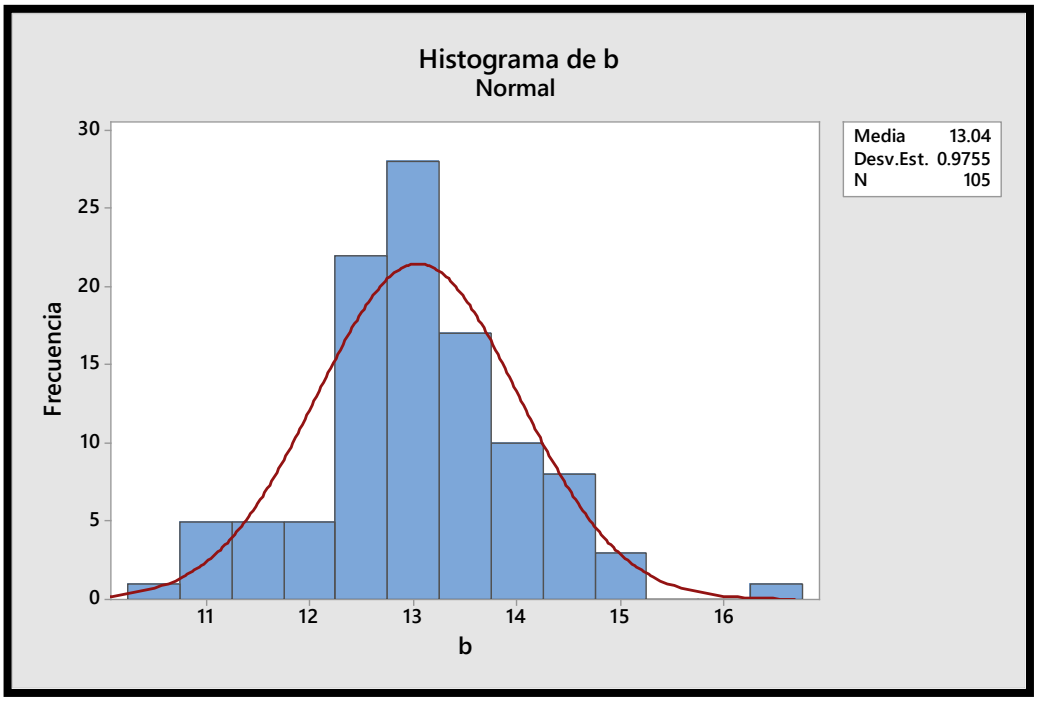


Figura 35 — Histograma de Pruebas de normalidad para b

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo K

PRUEBAS DE NORMALIDAD PARA MICROBIOLÓGICO

K.1 Curva de Pruebas de normalidad para Microbiológico

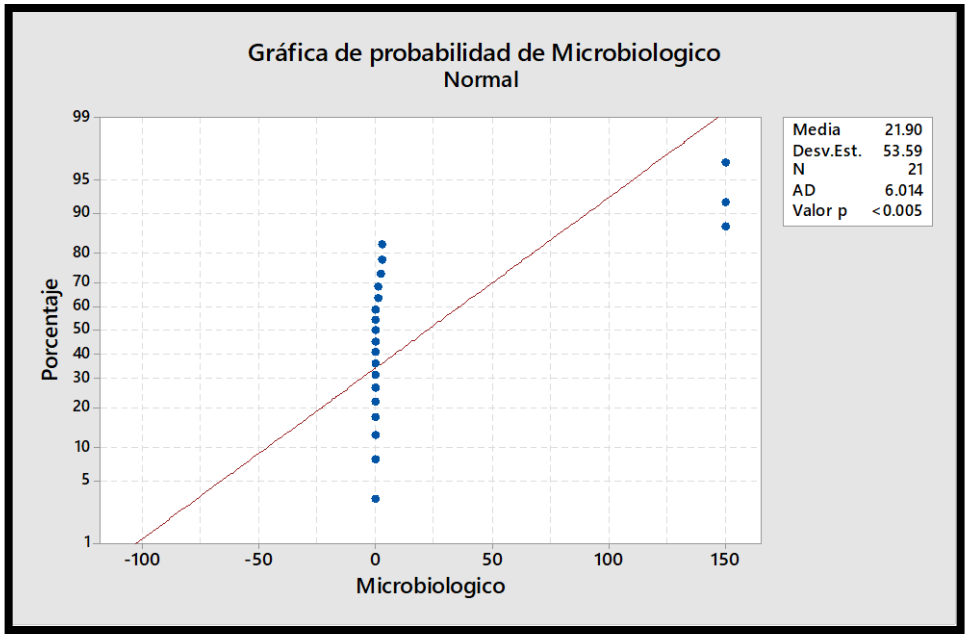


Figura 36 — Curva de Pruebas de normalidad para Microbiológico

K.2 Histograma de Pruebas de normalidad para Microbiológico

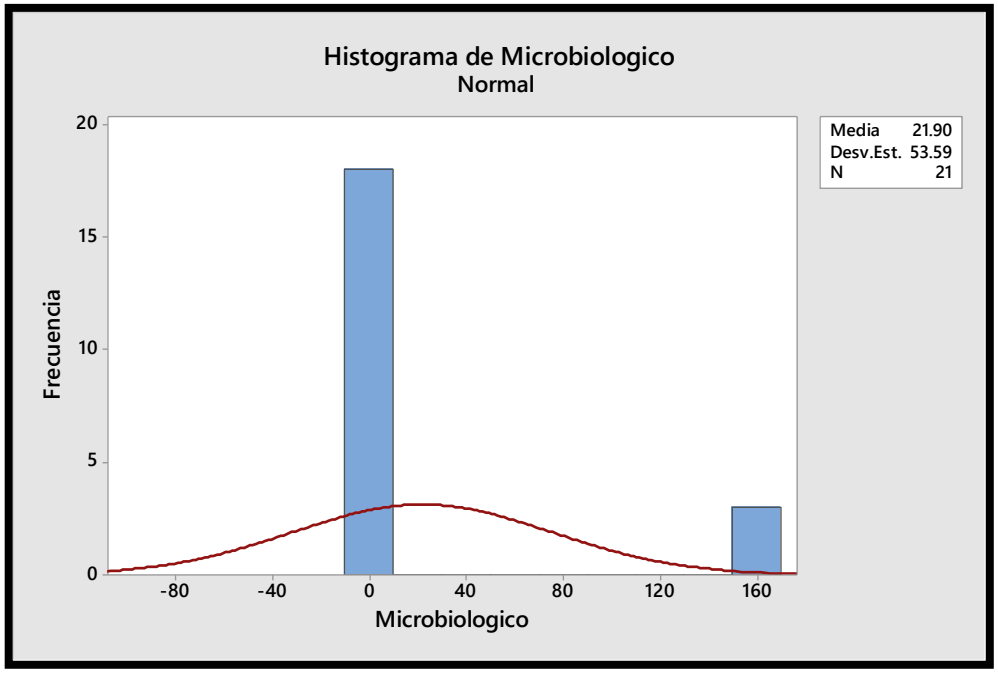


Figura 37 — Histograma de Pruebas de normalidad para Microbiológico

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo L

PRUEBAS DE NORMALIDAD PARA ANÁLISIS SENSORIAL

L.1 Prueba de probabilidad para color

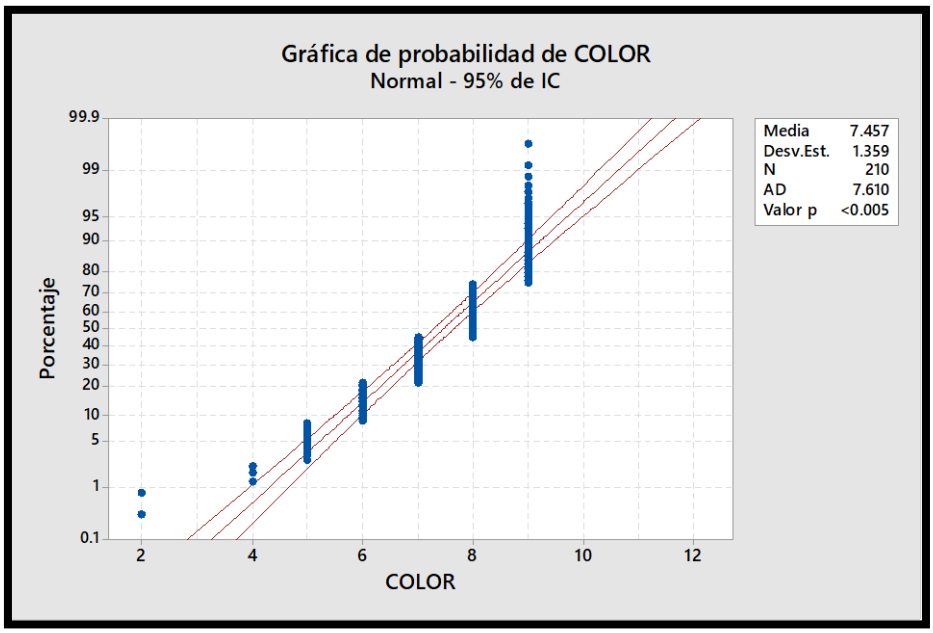


Figura 38 — Curva de probabilidad para color

L.2 Histograma de Pruebas de probabilidad para color

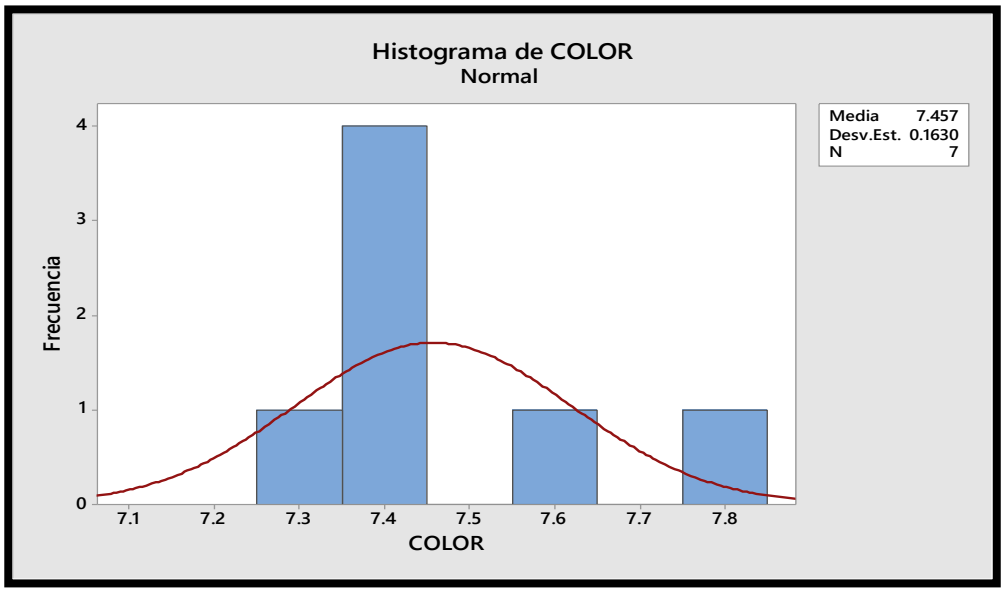


Figura 39 — Histograma de Pruebas de probabilidad para color

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo M

PRUEBAS DE NO NORMALIDAD PARA OLOR

M.1 Curva de Prueba de probabilidad para olor

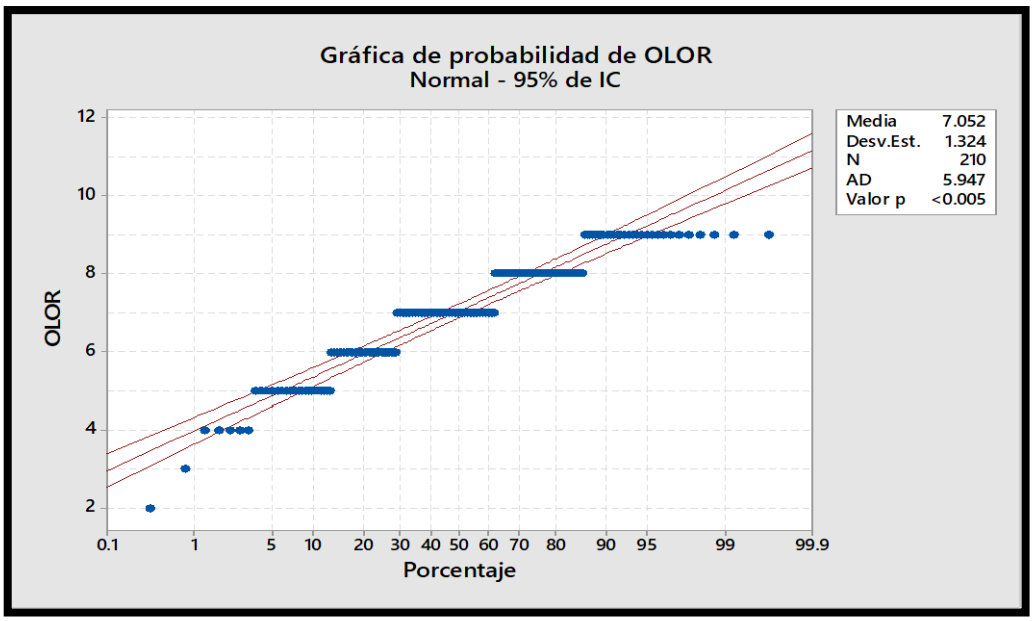


Figura 40 — Curva de Prueba de probabilidad para olor

M.2 Histograma de Prueba de normalidad para olor

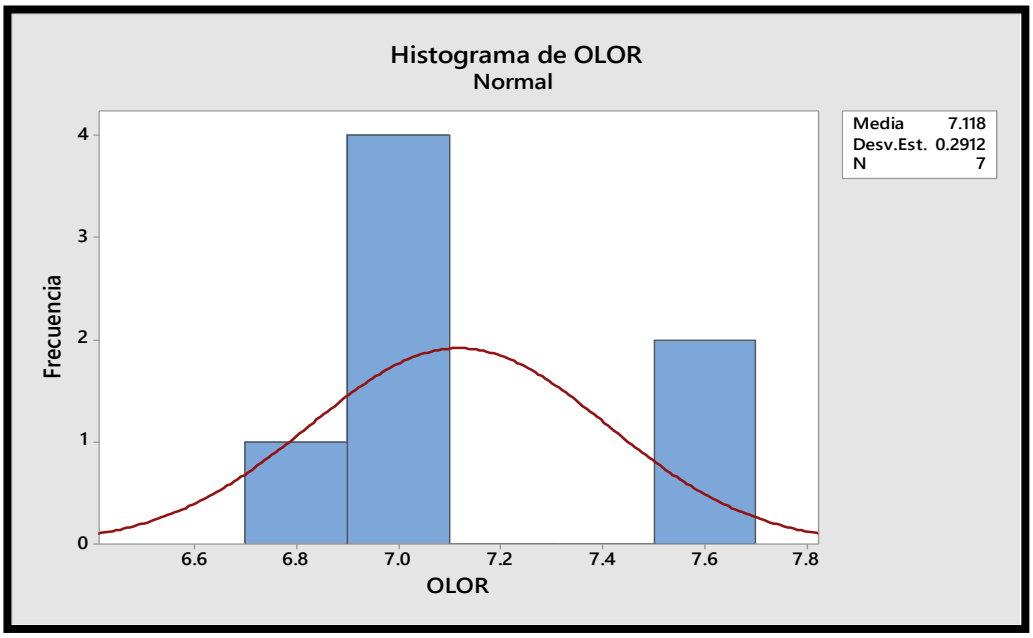


Figura 41 — Histograma de Prueba de normalidad para olor

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo N

PRUEBA DE NO NORMALIDAD PARA TEXTURA

N.1 Curva de Prueba de probabilidad para Textura

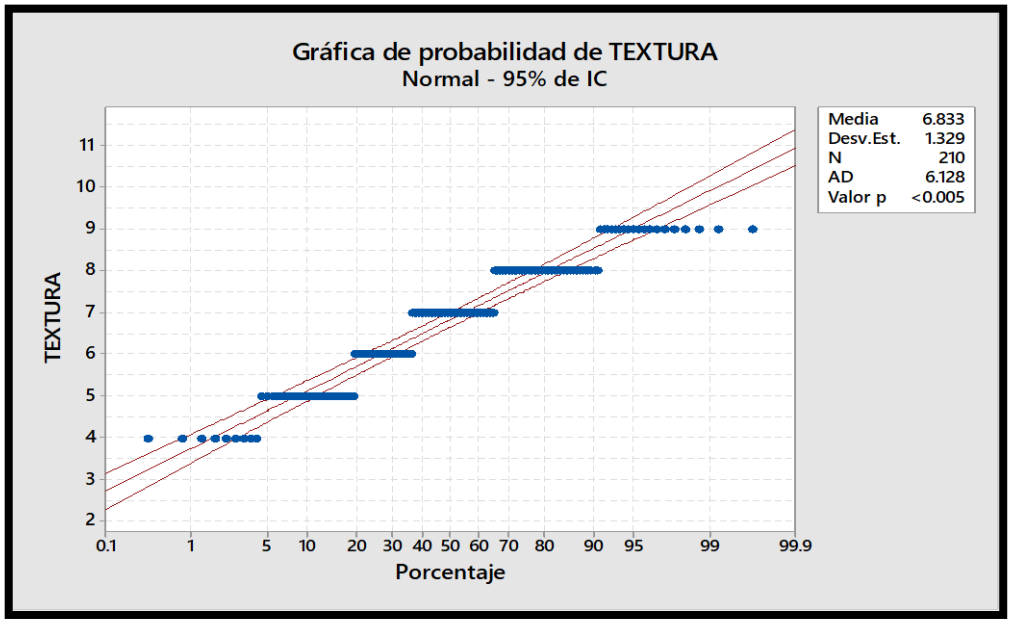


Figura 42 — Curva de Prueba de probabilidad para Textura

N.2 Histograma de Prueba de normalidad para Textura

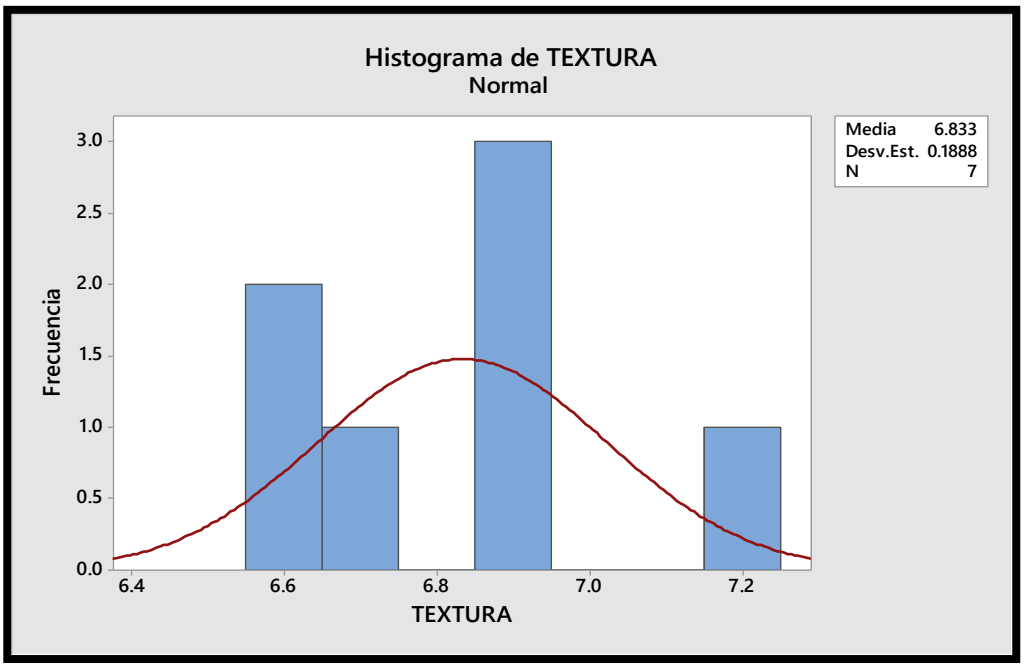


Figura 43 — Histograma de Prueba de normalidad para Textura

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo Ñ

PRUEBAS DE NO NORMALIDAD PARA SABOR

Ñ.1 Curva de Pruebas de probabilidad para sabor

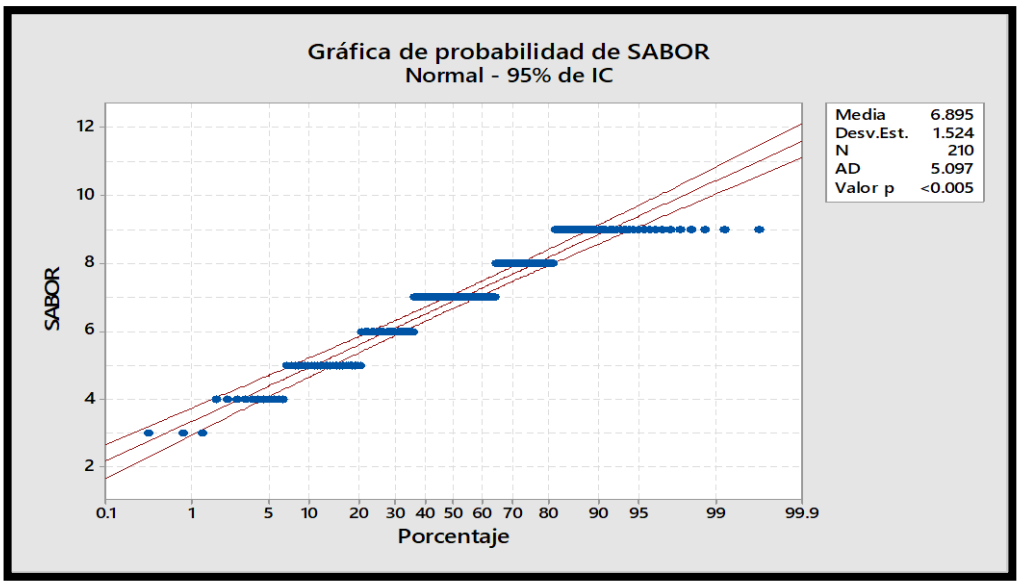


Figura 44 — Curva de Pruebas de probabilidad para sabor

Ñ.2 Histograma de Pruebas de normalidad para sabor

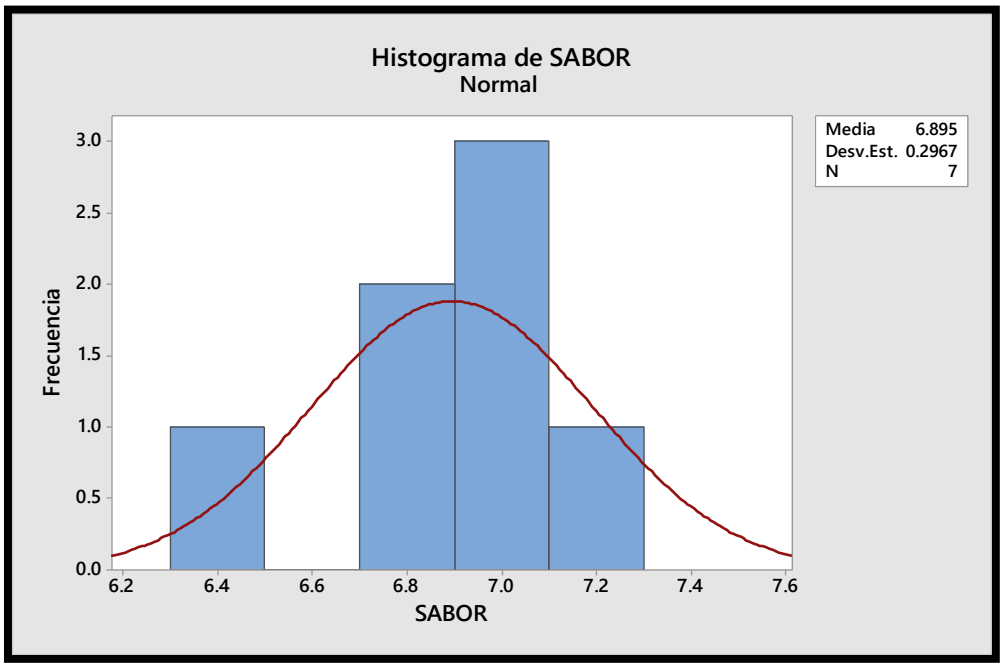


Figura 45 — Histograma de Pruebas de normalidad para sabor

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo O

PANEL FOTOGRÁFICO

O.1 Panel fotográfico de extracción de aceite esencial



Figura 46 — A) medio cultivo ADS B) muestras para aislar C) tubos con diluciones D) placas con ADS E) *Rhizopus* para aislar F) *Penicillium* para aislar.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

O.2 Panel fotográfico de aislamiento de moho y determinación antifúngica del aceite esencial de naranja in vitro.

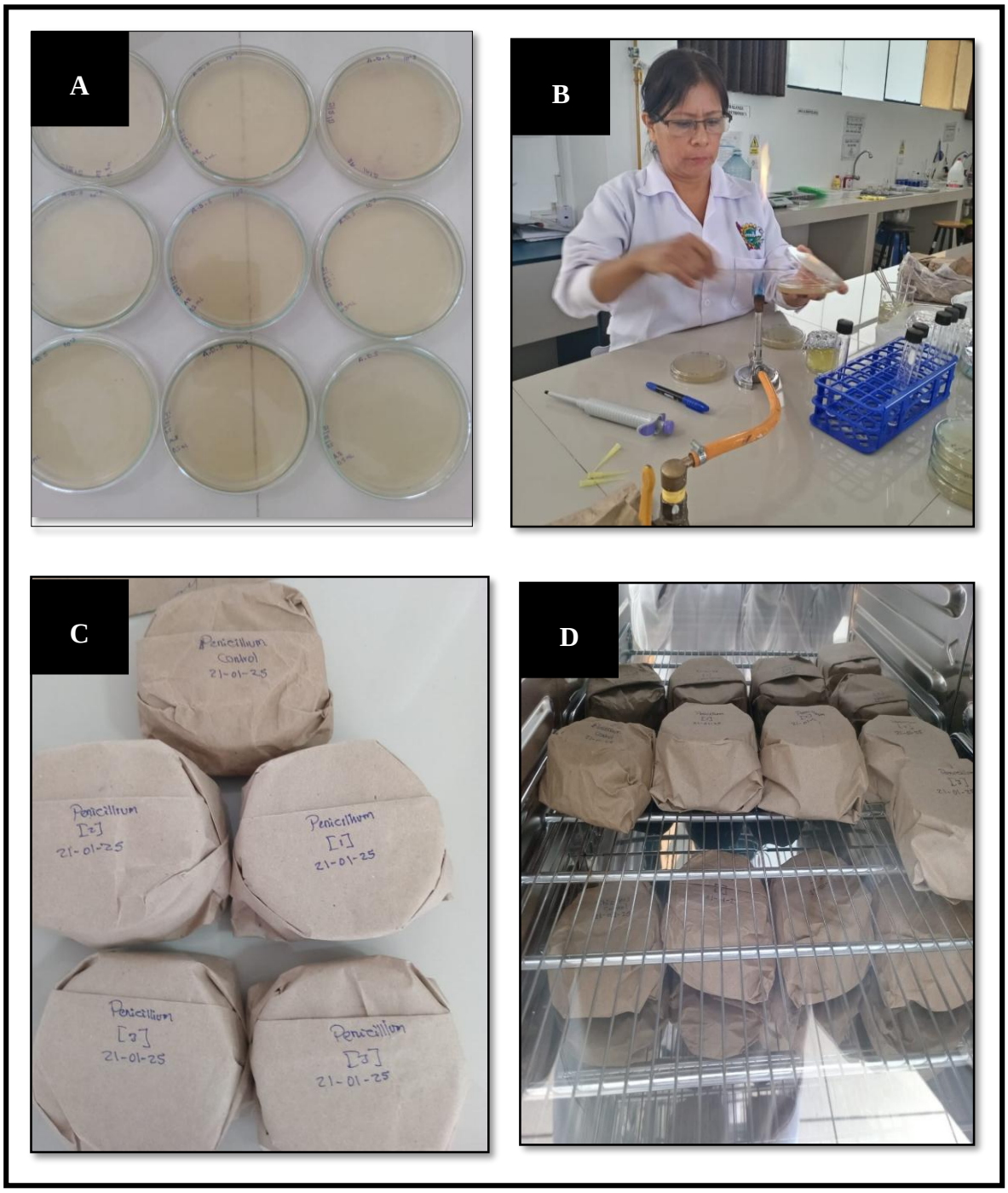


Figura 47 — A) placas para la siembra B) siembra de muestra C) muestras rotulados D) muestras en incubación a T 25°C.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

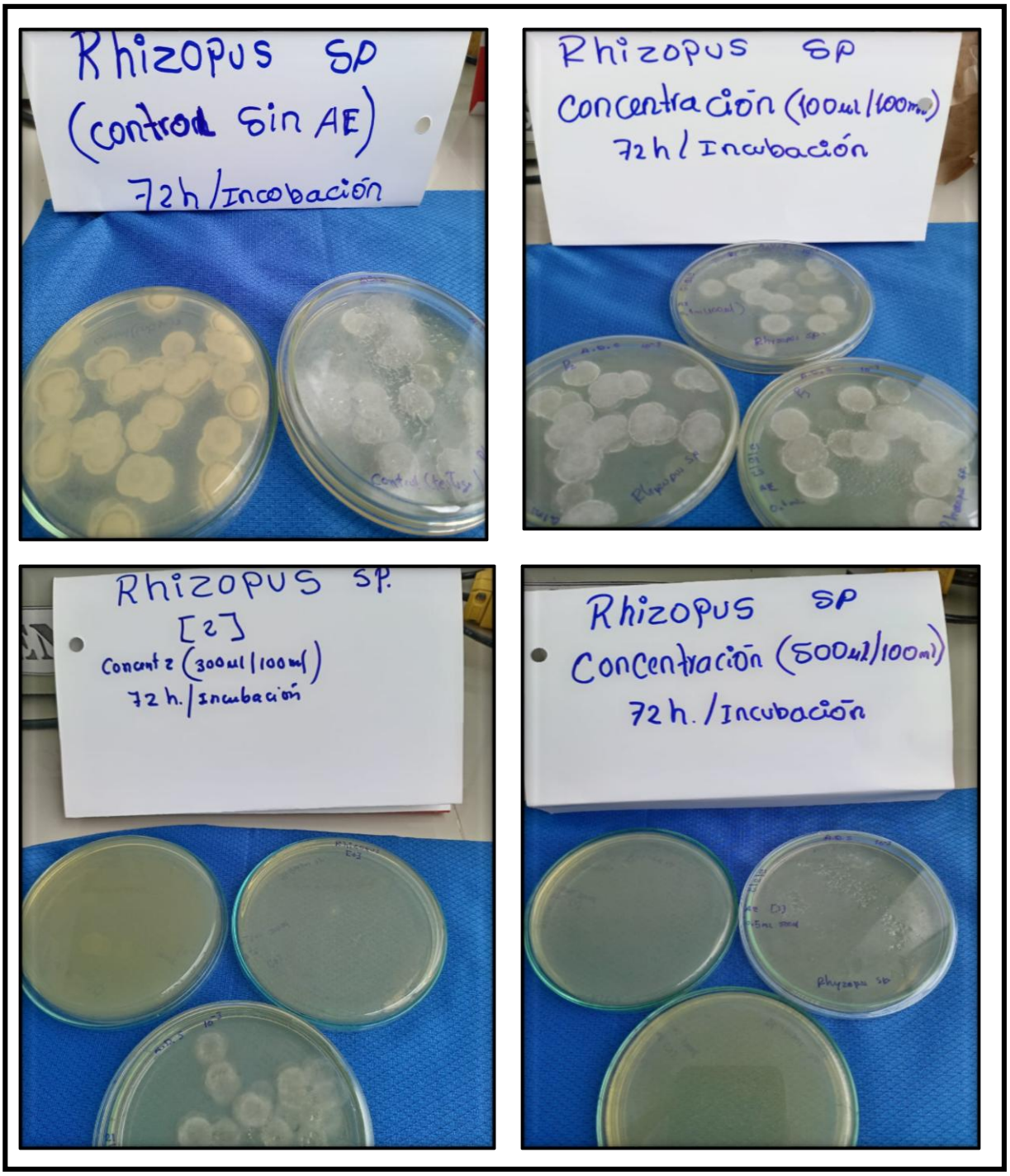


Figura 48 — Evaluación antifúngico del aceite esencial de naranja contra *Rhizopus pss* en concentraciones 0.1 %, 0.3 % y 0.5 % en 72 horas de incubación

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

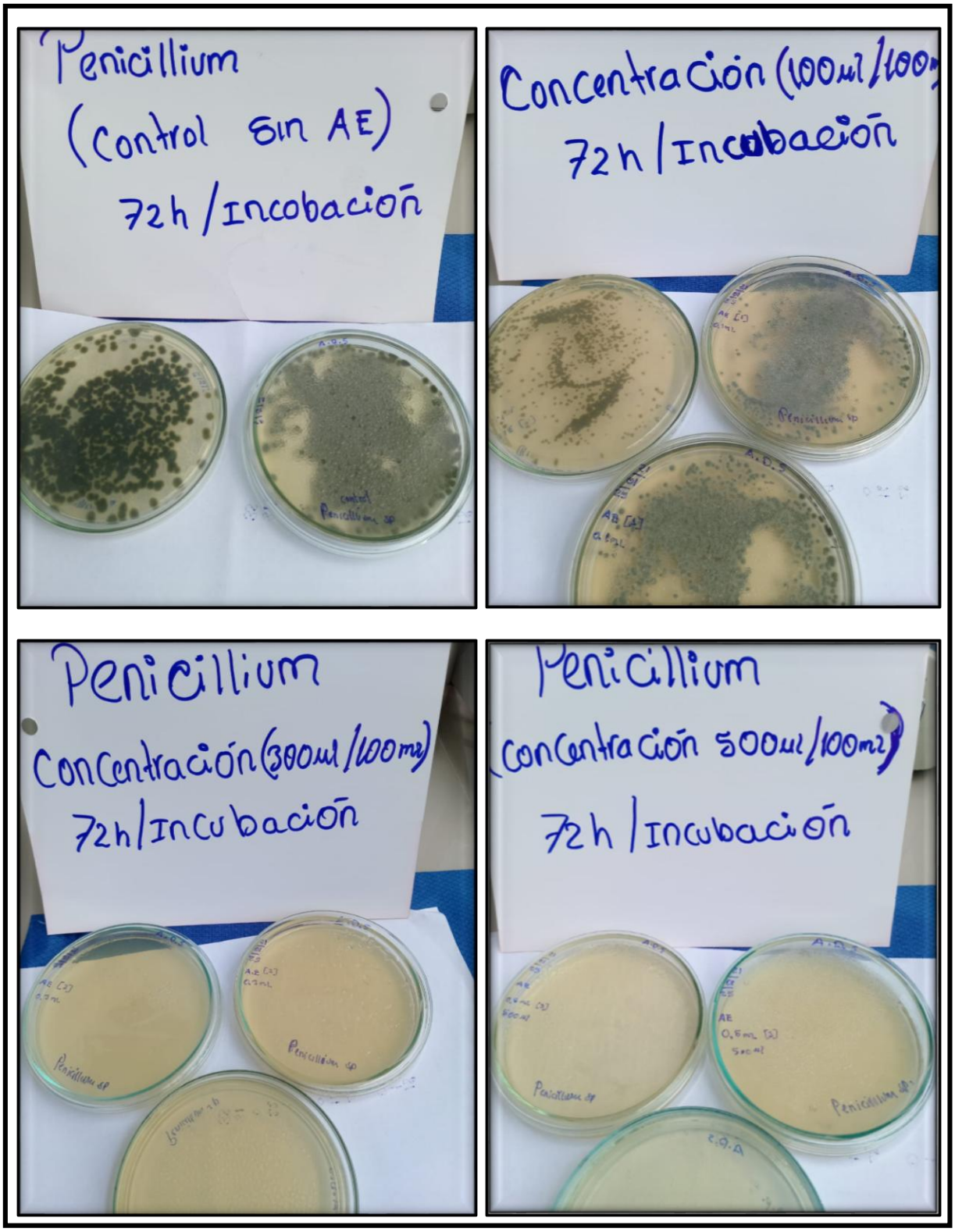


Figura 49 — Evaluación antifúngico del aceite esencial de naranja contra *Penicillium spp* en concentraciones 0.1 %, 0.3 % y 0.5 % en 72 horas de incubación.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

O.3 Panel fotográfico de elaboración de pan de molde y aplicación con aceite esencial.



Figura 50 — A) amasado B) pesado de masa C) boleado de masa D) colocado de masa en el molde E) medida de aceite esencial F) aplicación de aceite esencial en Spray.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

O.4 Panel fotográfico de análisis fisicoquímico del pan de molde aplicación con aceite esencial

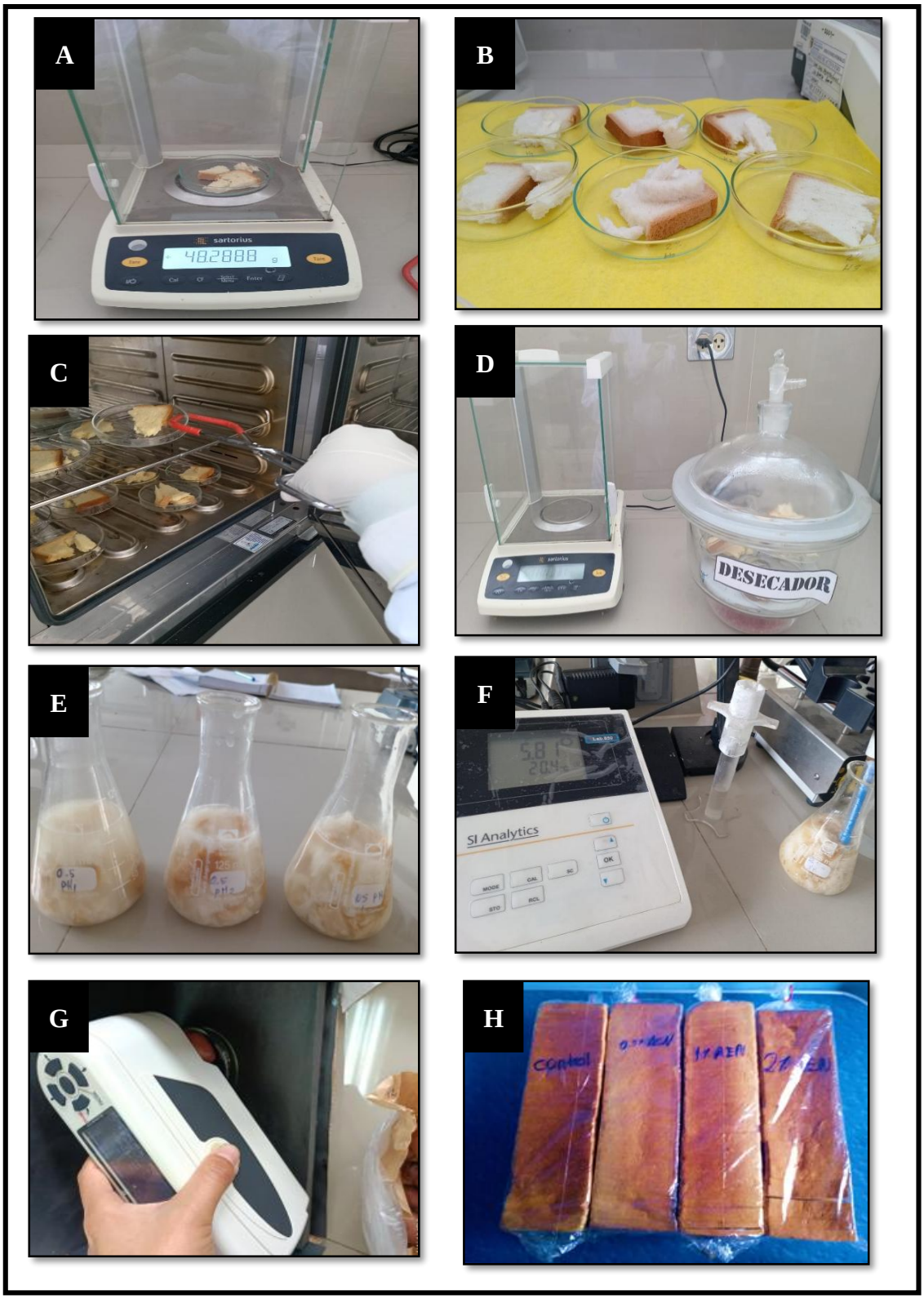
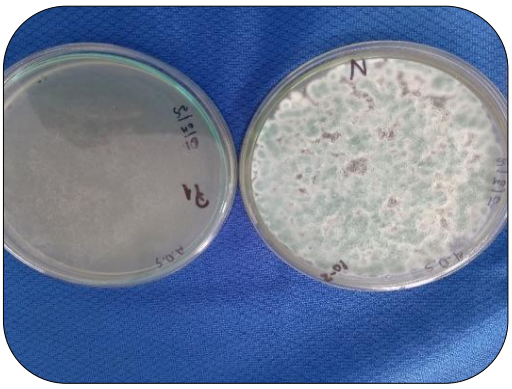


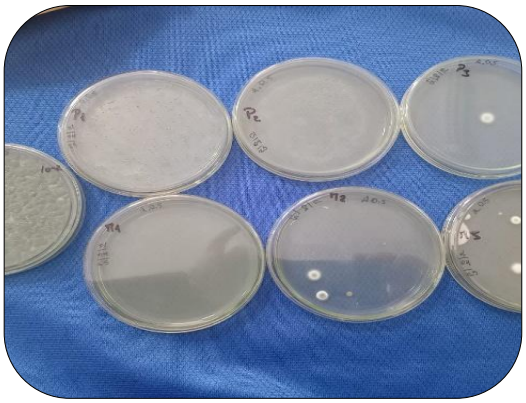
Figura 51 — A) pesado de muestra B) muestra pesada C) muestra en la estufa D) muestra en desecador E) muestra para determinar pH F) determinación de pH G) Uso del colorímetro para detección de color H) muestra para detección de color

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

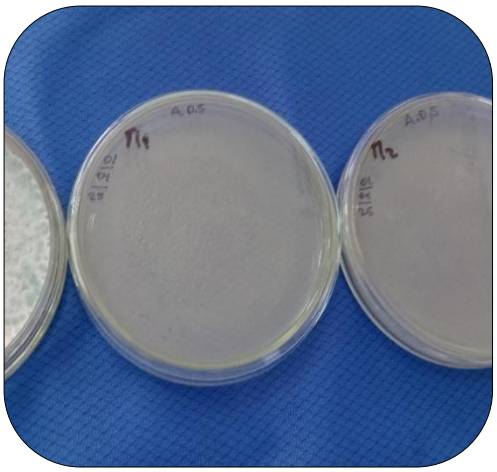
O.5 Panel fotográfico de análisis microbiológico



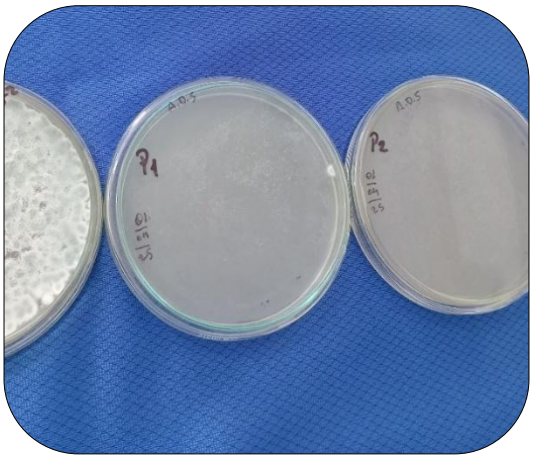
Comparacion de control (N) con el metodo spray (P1)



Crecemiento de mohos en los 7 tratamientos



Metodo spray



Metodo directo



Pan de molde metodo spray con 7 dias de vida util



pan de molde metodo directo con 7 dias de vida util

Figura 52 — Análisis microbiológico del pan de molde aplicados por dos métodos

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

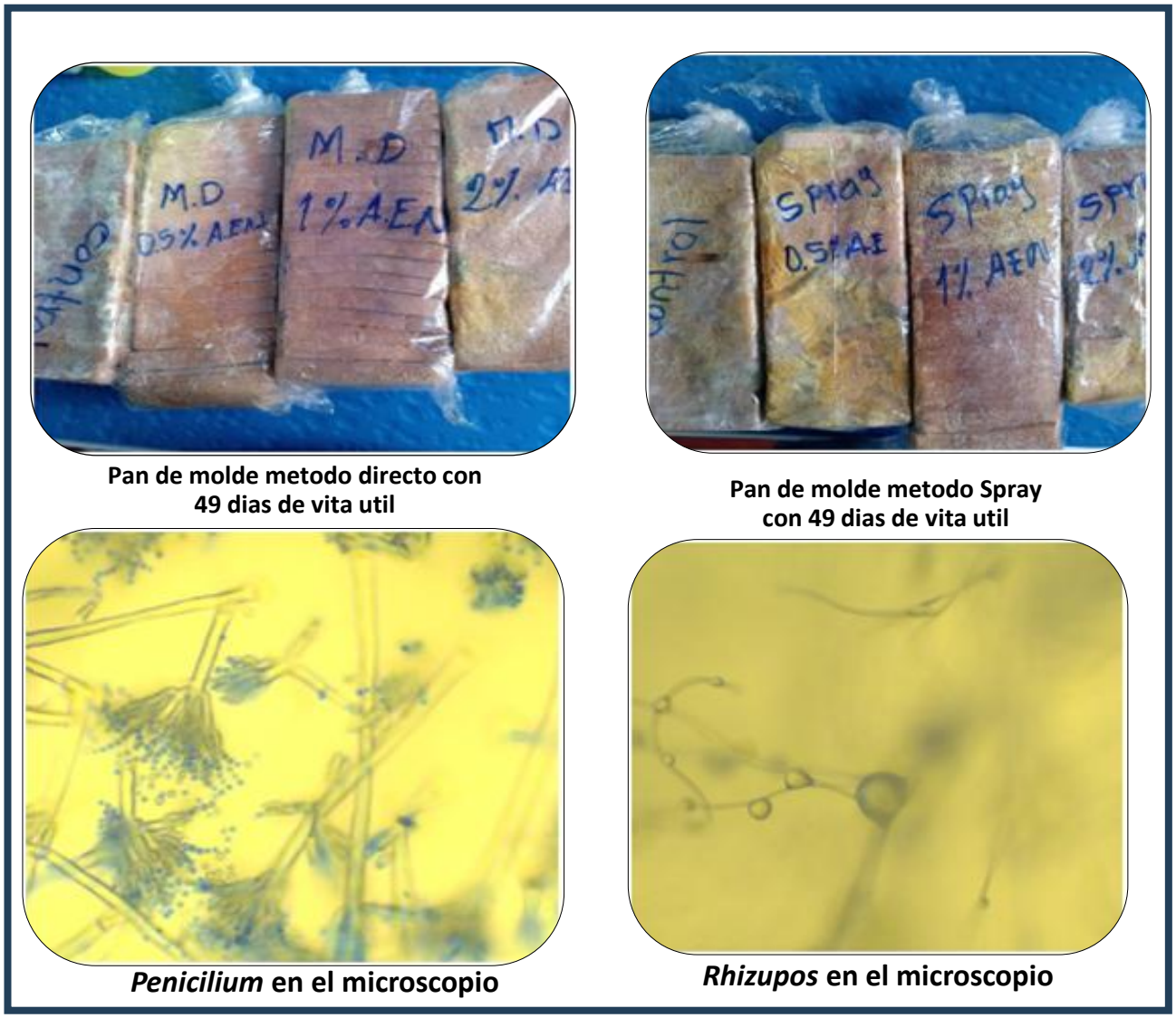


Figura 53 — Análisis microbiológico del pan de molde aplicados por dos métodos

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

O.6 Panel fotográfico de análisis sensorial



Figura 54 — A) cartilla de evaluación a escala hedónica B) imagen 1 de panelistas C) imagen 2 de panelistas D) imagen 3 de panelistas.

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú

Anexo P

P.1 Ficha de evaluación sensorial de pan de molde

Cartillas de evaluación sensorial a escala hedónica

Producto: Pan molde aplicado con aceite esencial de naranja Método Directo y Spray

Nombre: …… **Fecha**: ……

Instrucciones

Frente a usted hay 7 muestras, Pruebe por favor las siguientes muestras de pan molde aplicado con aceite esencial en diferentes cantidades y métodos. Califique del 1 a 9 en la escala que mejor describe su sentir con el código de la muestra.

Atributos	Códigos de muestras						
	100	55	10	22	50	11	20
Color							
Olor							
Textura							
Sabor							

Donde:

- ✓ Les gustó excesivamente = 9
- ✓ Les gustó mucho = 8
- ✓ Les gusto algo = 7
- ✓ Les gusto poco = 6
- ✓ Les gusto neutro = 5
- ✓ Les desagrado poco = 4
- ✓ No les gusto = 3
- ✓ No les gusto nada = 2
- ✓ No me gusta en absoluto = 1

Observaciones: ……

MUCHAS GRACIAS

Figura 55 — Ficha de evaluación sensorial de pan de molde

Repositorio Institucional - UNAMBA Perú