

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERÍA EN CIENCIA Y

TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



TESIS

**Desarrollo y caracterización de un pan funcional en barra con la
adición de harina de *Ustilago maydis*.**

POR:

DANIA SOLÍS CRUZ

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE:**

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Saltillo, Coahuila, México

Abril, 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERÍA EN CIENCIA Y

TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**Desarrollo y caracterización de un pan funcional en barra con la adición de
harina de *Ustilago maydis*.**

POR:

Dania Solís Cruz

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

La cual fue dirigida y revisada por:

COMITÉ ASESOR



Dra. Xóchitl Ruelas Chacón

Asesor principal



Q.F.B. María Carmen Julia García

Coasesor



Dr. Neymar Camposeco Montejó

Coasesor

Saltillo, Coahuila, México

Abril, 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERÍA EN CIENCIA Y

TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**Desarrollo y caracterización de un pan funcional en barra con la adición de
harina de *Ustilago maydis*.**

POR:

Dania Solís Cruz

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

JURADO EXAMINADOR

Dra. Xochitl Ruelas Chacón

Presidente

Q.F.B. María Carmen Julia García

Vocal

Dr. Neymar Montejo Camposeco

Vocal

Dr. Antonio Flores Naveda

Vocal

M.C. Pedro Carrillo López
Coordinador de la División de Ciencia Animal



Declaración de no plagio

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citar; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante



Dania Solís Cruz

AGRADECIMIENTOS

A mi Alma Terra Mater la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por permitirme desarrollarme profesionalmente en sus instalaciones dándome esa oportunidad de la cual estaré agradecida toda mi vida.

A mi madre, Celia Solís Cruz por su apoyo durante mi carrera, siempre motivándome a seguir superándome a pesar de las adversidades.

A mis padres, Fabiana Cruz Melo y Antonio Solís Licona por estar para mi cuando más lo necesite.

A mi hijo Kevin Daniel Hernández Solís por su paciencia, amor, pero sobre todo por su comprensión.

A mi hermana Arlette Solís Cruz por estar a mi lado dándome los mejores consejos.

A mi tía María de Lourdes Solís Cruz por alentarme a seguir adelante

A la Dra. Xochitl Ruelas Chacón por su dedicación, tiempo y esfuerzo para apoyarme compartiéndome su gran sabiduría durante mi paso por la carrera y finalmente en la investigación presente para concluir con satisfacción la carrera de Ingeniería Ciencia y Tecnología en Alimentos.

A mis asesores el Dr. Antonio Flores Naveda Subdirector de Posgrado, Dr. Neymar Camposeco Coordinador del Centro de Granos y Semillas del Departamento de Fitomejoramiento y a la QFB. Carmen Julia García. por el apoyo y su valioso tiempo durante la elaboración de este proyecto.

Al profesor Luis Carlos Olvera Ríos por apoyarme en la realización del experimento bromatológico de las muestras del trabajo de investigación, pero sobre todo por brindarme su confianza.

A la Dra. J. Yanira Yaber Patiño por su apoyo incondicional desde el día uno como mi tutora durante toda mi carrera.

A mis amigos, Aylin Valdez Rosas, Cristina Hernández Jiménez, Víctor Manuel Pérez Cuervo, Ana Cristina Estrada Montero, Gregorio Hernández Santos, Norberto Israel Andrade, Fabiola Cosentino y Lázaro Montejó por su amistad sincera, por las horas de estudio a su lado, me han demostrado su lealtad en diferentes etapas de mi vida compartiendo risas y recuerdos juntos, ahora sé que la amistad no tiene fecha de caducidad y vence distancias.

A mi fiel amigo peludo Ragnarock por pasar las noches de desvelo a mi lado mientras yo estudiaba.

DEDICATORIA

A Dios por sus infinitas bendiciones.

A Jesús Cristo y mi Virgen por ser la luz en mi camino.

A mi hijo por su amor incondicional.

A mi madre.

A mi padre porque, aunque no esté en este plano terrenal fue recordado en cada logro que obtuve durante mi carrera.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	6
DEDICATORIA	8
CONTENIDO.....	9
ÍNDICE DE CUADROS	12
ÍNDICE DE FIGURAS	13
RESUMEN	15
CAPITULO I.....	17
INTRODUCCIÓN	17
1.1 Justificación	19
1.2 Hipótesis	19
1.3 Objetivos	20
1.3.1 Objetivo General	20
1.3.2 Objetivos Específicos	20
CAPITULO II.....	21
REVISIÓN DE LITERATURA	21
2.1 Generalidades del <i>Ustilago maydis</i> “huitlacoche”	21
2.1.1 Historia del Huitlacoche	21
2.2 Distribución	21
2.2.1 El Huitlacoche en México	21
2.2.2 El huitlacoche en otros países	22
2.3 Aspectos botánicos	22
2.3.1 Taxonomía.....	23
2.3.2 Fenología	23
2.4 Manejo del cultivo	24
2.4.1 Cosecha	24
2.4.2 Especies susceptibles al huitlacoche	25
2.4.3 Insectos que atacan al huitlacoche	25
2.5 Características nutrimentales en el huitlacoche	26
2.5.1 Ácidos grasos.....	26
Cuadro 1. Ácidos grasos presentes en el Huitlacoche	¡Error! Marcador no definido.

2.5.2 Contenido proteico	26
2.5.3 Vitaminas y minerales	27
2.5.4 Azucares	27
2.5.5 Actividad antioxidante	27
2.6 Alimentos funcionales	28
2.6.1 Beneficios del huitlacoche como alimento funcional	29
2.7 Pan.....	29
2.7.1 Harina	30
2.7.2 Harina de huitlacoche	31
2.7.3 La fermentación en el pan.....	31
2.7.4 Horneado del pan.....	31
2.7.5 Pan de barra	32
2.8 Consumo de pan en México y el mundo	32
CAPITULO III	33
MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
3.1 Deshidratación del huitlacoche	36
3.2 Elaboración del pan de barra a base de huitlacoche	37
3.3 Análisis sensorial.....	38
3.4 Análisis bromatológico	40
3.4.1 Determinación de humedad	40
3.4.2 Determinación de cenizas	41
3.4.3 Determinación de proteína cruda	42
3.4.4 Determinación de grasa	44
3.4.5 Determinación de fibra cruda	45
3.4.6 Determinación de carbohidratos	47
3.5 Análisis físico.....	48
3.5.1 Color	48
3.5.2 Actividad de agua (Aw).....	48
3.5.3 Firmeza	49
3.6 Análisis de los componentes bioactivos	49
3.6.1 Determinación de flavonoides	49
3.7 Determinación de actividad antioxidante.....	50

3.7.1 Acondicionamiento de la muestra para determinar actividad antioxidante mediante DPPH y ABTS	50
3.7.2 DPPH	50
3.7.3 ABTS	50
CAPÍTULO IV.....	51
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
4.1 Resultados de la elaboración de la barra de pan	51
4.2 Evaluación del análisis sensorial.....	52
4.2.1 Apariencia global.....	52
4.2.2 Color	53
4.2.3 Olor	54
4.2.4 Sabor	55
4.2.5 Textura	56
4.2.6 Aceptación global	57
4.3 Determinaciones del análisis bromatológico	58
4.3.1 Determinación de humedad	58
4.3.2 Determinación de cenizas	59
4.3.3 Determinación de proteína	60
4.3.4 Determinación de grasa	61
4.3.5 Determinación de fibra	62
4.3.6 Determinación de carbohidratos	63
4.4 Análisis físico.....	64
4.4.1 Color	64
4.4.2 Actividad de agua (Aw).....	67
4.4.3 Firmeza	68
4.5 Análisis de componentes bioactivos.....	69
4.5.1 Determinación de flavonoides	69
4.6 Determinación de actividad antioxidante.....	70
4.6.1 DPPH	70
4.6.2 ABTS.....	71
CAPÍTULO V.....	72
CONCLUSIONES	72
CAPÍTULO VI.....	73

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 73

CAPÍTULO VII..... 82

ANEXOS 82

Comentado [XR1]: El cuadro no va aquí sale va en un índice de cuadros.

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 ácidos grasos presentes en el huitlacoche 26

Cuadro 2. Contenido de algunos minerales presentes en el huitlacoche 27

Cuadro 3. Porcentajes de los ingredientes por tratamientos (T1 100%HT, T2 50% HH, T3, 25% HH)..... 38

Cuadro 4. Soluciones por tubos de ensayos para determinar azucares totales ... 48

Cuadro 5. Identificación de formulas con porcentaje de harina de huitlacoche (*Ustilago maydis*)..... 52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Mazorca infectada por <i>Ustilago maydis</i> , conocida como “carbón” del maíz (Zea mays).	17
Figura 2 Cubículos del laboratorio de análisis sensorial.....	39
Figura 3. Muestras de los tres diferentes tratamientos.....	40
Figura 4. Desecador con muestras de los tres tratamientos para determinar porcentaje de humedad.....	41
Figura 5. Desecador con muestras incineradas.	41
Figura 6. Muestras secas en papel filtro.....	42
Figura 7. Matraz bola con muestras en papel filtro.....	42
Figura 8. Descomposición de la materia orgánica en matraz bola.	
Figura 9. Destilación	43
Figura 10. Equipo para la determinación de grasa por el método de Soxhlet	44
Figura 11. Primera digestión para determinar fibra cruda.....	46
Figura 12. Residuo de digestión (fibra).....	46
Figura 13. Determinación de carbohidratos para los tres tratamientos.	47
Figura 14. Determinación de actividad de agua (Aw) de los tres tratamientos.	49
Figura 15. Tratamiento 1	52
Figura 16. Tratamiento 2	52
Figura 17. Tratamiento 3.....	52
Figura 18. Nivel de agrado sobre la apariencia global.....	53
Figura 19. Nivel de agrado sobre el color.....	54
Figura 20. Nivel de agrado sobre el olor.....	55

Figura 21. Nivel de agrado sobre el sabor.....	56
Figura 22. Nivel de agrado sobre la textura.....	57
Figura 23. Nivel de agrado sobre la aceptación global.....	58
Figura 24. Gráfica de medias de los porcentajes obtenidos para humedad.	59
Figura 25. Gráfica de medias de los porcentajes obtenidos para cenizas.....	60
Figura 26. Gráfica de medias de los porcentajes obtenidos para proteína cruda. 61	
Figura 27. Gráfica de medias de los porcentajes obtenidos para grasa.....	62
Figura 28. Gráfica de medias de los porcentajes obtenidos para fibra cruda	63
Figura 29. Gráfica de medias de los porcentajes obtenidos para carbohidratos ..	64
Figura 30. Gráfica de medias obtenidas para color.	65
Figura 31. Diagrama del espacio CIE L* a* b*	66
Figura 32. Diagrama de Luminosidad.....	
Figura 33. Gráfica de medias de las medias obtenidas para (Aw)	67
Figura 34. Gráfica de medias de las medias obtenidas para firmeza	68
Figura 35. Gráfica de medias de las medias obtenidas para flavonoides.....	69
Figura 36. Gráfica de medias de las medias obtenidas para actividad antioxidante mediante el método de DPPH.....	70
Figura 37. Gráfica de medias de las medias obtenidas para actividad antioxidante mediante el método de ABTS.....	71

RESUMEN

El huitlacoche (*Ustilago maydis*) es un hongo parasitario de gran consumo en diversos estados de México, en la actualidad forma parte importante de la gastronomía gourmet mexicana, ya que tiene un sabor que lo hace único además de las propiedades alimenticias que nos ofrece. Es un alimento funcional debido a que se ha demostrado su composición y su beneficio a la salud si es de consumo cotidiano, es un alimento aun accesible para el consumidor de libre disposición y económico. El huitlacoche (*Ustilago maydis*) además de que aporta un gran sabor al paladar goza de excelentes nutrientes como ácidos grasos, proteína, fibra, vitaminas y minerales sin dejar a un lado el bajo contenido de grasa. En el presente estudio se evaluaron características sensoriales, bromatológicas, físicas, bioactivos y antioxidantes de tres formulaciones de pan hecho a base de harina de huitlacoche en diferentes porciones, además de que se evaluó sensorialmente para determinar la aceptabilidad del consumidor. El estudio se llevó a cabo en el laboratorio de análisis sensorial con un panel semi entrenado al cual se le proporcionaron las muestras de pan para que identificaran las características sensoriales y evaluaron los atributos de apariencia global, color, sabor, textura y aceptación global. Los resultados se analizaron utilizando un análisis de varianza a una $p > 0.05$ con un estudio de medias de Fisher. Las muestras se sometieron a un análisis bromatológico en el laboratorio de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro para determinar los porcentajes de componentes activos y así determinar el grado de aliento funcional, de igual manera se analizó la actividad antioxidante y flavonoides de la barra de pan.

Palabras clave: huitlacoche, pan, alimento funcional, análisis sensorial, actividad antioxidante.

Tesista: Dania Solís Cruz

Correo electrónico: danikcel09@gmail.com

Asesora principal: Dra. Xochitl Ruelas Chacón

Correo electrónico: xochitl_ruelas@uaaan.edu.mx xruelas@yahoo.com

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

El huitlacoche (*Ustilago maydis*) es el resultado de un proceso propio del reino fungí que únicamente podremos encontrar en los cultivos de maíz (*Zea mays*), provocando hipertrofia (Fig. 1) (Barragán *et al.*, 2019). *Ustilago maydis* es un hongo con grandes variantes genéticas de ahí la importancia de estudio para entender el desarrollo como nuevo cultivo artificial en México, tomando en cuenta sus características fisiológicas, así como el manejo agronómico del mismo para calcular la productividad del huitlacoche (Escalante *et al.*, 2020).



Figura 1 Mazorca infectada por *Ustilago maydis*, conocida como “carbón” del maíz (*Zea mays*), recolectada en Las Fuentes, Zaragoza, España (Romo, 2023)

Estudios sobre el huitlacoche han detectado que posee características especiales como niveles bajos de grasa y altos para aminoácidos esenciales, así como fibra cruda, también hacer mención que existe poca información para la determinación específica de estudios para compuestos fenólicos en *Ustilago maydis*, estudios que pretenden obtener información detallada para el desarrollo de productos con un fin funcional (Beas, 2020).

Según estudios de la FAO hablan de una transformación de la alimentación mexicana como una necesidad nutritiva que tiene una repercusión en la salud, en el proyecto (Carnalla, 2023) se formuló una harina enriquecida con *Ustilago maydis* para la elaboración de alimentos nutritivos.

De acuerdo con la información nutrimental ya conocida por diferentes estudios y teniendo conocimiento que desde hace mucho tiempo el huitlacoche es reconocido como un alimento, podemos desarrollar diferentes productos donde se incluya como ingrediente principal el *Ustilago maydis*, uno de los productos de más consumo es el pan, producto alimenticio de alcance mundial al cual se le puede adicionar diversos ingredientes para enriquecer y fortalecer al alimento.

Diversos estudios preocupados por la salud han ido elaborando diferentes productos que mejoren su calidad de vida al ser ingeridos, como es el caso de (Boz, 2020) quien se basa en la mejora de pan integral a base de diferentes materiales de origen vegetal demostrando que hay una mejora nutrimental del producto con estas adiciones y promueve la ingesta diaria de cereales integrales que tengan niveles significantes de fibra.

1.1 Justificación

Las carencias nutricionales han despertado el interés por la investigación a profundo sobre la nutrición global y la relación que se tiene con las enfermedades crónico-degenerativas y el efecto que tiene sobre el organismo humano.

La comunidad se preocupa cada vez más por su salud y busca alternativas saludables que lleve a su mejora, cada vez más se busca la información sobre alimentos naturales y sus propiedades, existen empresas preocupadas en estos temas llevando a la mesa de los consumidores productos que ayuden a su salud.

Estos productos reducen la incidencia de padecer algunas enfermedades, ha estos alimentos se les han denominado Alimentos Funcionales (AF). Estos AF hacen efecto específico sobre un organismo en particular en beneficio a su función previniendo enfermedades diversas.

La Industria Alimentaria ha ido regulando la elaboración y distribución de estos productos ya que conllevan una gran responsabilidad al ser consumidos.

Este concepto de desarrollar AF surge en los años 80's en Japón, dónde los organismos gubernamentales de la salud se preocupan por el consumo de alimentos que no solo nutran si no también actúen como medicamentos de origen natural, y de manera natural como es el alimentarse diariamente, y así este país formó una organización dedicada a la regulación de estos alimentos llamada Food for Specified Health Use (Araya *et al.*, 2023).

Con base a lo anterior podemos plantear las siguientes hipótesis:

1.2 Hipótesis

Ho: La utilización de harina de huitlacoche (*Ustilago maydis*) para elaborar un pan de barra aportará componentes funcionales benéficos para quien lo consuma.

Ha: La utilización de harina de huitlacoche (*Ustilago maydis*) para elaborar un pan de barra no aportará componentes funcionales benéficos para quien lo consuma.

Para que la hipótesis tenga un valor significativo es necesario establecer los siguientes objetivos:

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Evaluar las características de calidad de un pan funcional con harina de huitlacoche (*Ustilago maydis*).

1.3.2 Objetivos Específicos

1. Analizar el efecto de harina de huitlacoche en el pan de barra mediante un análisis proximal (humedad, proteína, fibra cruda, grasa, cenizas, carbohidratos y valor calórico) métodos AOAC.
2. Examinar las propiedades de color, Aw, textura, capacidad de absorción de agua, y determinación del coeficiente de elevación.
3. Determinar propiedades antioxidantes y vida de anaquel del pan de barra con huitlacoche.
4. Realizar una evaluación sensorial con una prueba hedónica de los atributos de apariencia, color, sabor, textura y olor, y perfil sensorial.

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades del *Ustilago maydis* “huitlacoche”

El huitlacoche es un hongo fitopatógeno (*Ustilago maydis*) que se inocula en el maíz (*Zea mays*) deformando los granos, enfermedad conocida como el “carbón común del maíz” teniendo gran importancia de consumo en la actualidad ya que se está tomando como cultivo alternativo por las excelentes propiedades nutrimentales y funcionales ya comprobadas, además que este alimento juega un papel importante en la gastronomía Mexicana como uno de los alimentos que distinguen al país desde la época de los aztecas.

2.1.1 Historia del Huitlacoche

En la época prehispánica la presencia de este hongo en las mazorcas significaba la pérdida del cultivo, se pensaba que provenía del castigo de algún Dios ya que el cultivo del maíz era sumamente sagrado (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2016).

Fray Bernardino de Sahagún en su escrito “Historia General de las Cosas de Nueva España” narra que en el siglo XVI el huitlacoche era la enfermedad del maíz que como consecuencia producía mazorcas deformes de color oscuro y se le da el nombre de “Cujtlacoche” que significa algo desagradable como el excremento que cae encima del maíz.

2.2 Distribución

La distribución de este hongo se puede dar en cualquier parte del mundo donde se tengan cultivos de maíz, de inoculación natural o de manera artificial ya que su uso de aprovechamiento depende de la zona donde se esté cultivando o estudiando.

2.2.1 El Huitlacoche en México

En México el huitlacoche se ha usado en la cocina tradicional desde la época precolombina y se conserva hasta estos días (Herrera, 2008).

Existen algunos grupos étnicos de la República Mexicana los cuales tienen perspectivas muy diferentes de lo que es el huitlacoche, un ejemplo de ello es la etnia de los Tlahuicas ubicados en el estado de México, ellos consideran que es un hongo

benéfico mientras que los nahuas del estado de Tlaxcala lo consideran como una enfermedad de un cultivo que es sagrado, la etnia de los Totonacas solo los adultos mayores consumen el hongo y los Raramuri tienen muy poco conocimiento del huitlacoche por lo consecuente no es consumido (MÉXICO, 2021).

2.2.2 El huitlacoche en otros países

Se cree que el huitlacoche llegó a Europa de manera accidental ya que los cultivos llevados podrían haber estado infectados de *Ustilago maydis* (Herrera, 2008).

El sabor único y específico del huitlacoche le ha abierto puertas gastronómicas internacionales posicionando este hongo como un alimento gourmet.

A consecuencia de la difusión de la información afirmativa de *Ustilago maydis* ha ido en aumento la demanda de este cultivo en algunos países como Japón, E.U.A y algunos países de Europa.

Y así *Ustilago maydis* se ha convertido en el ingrediente protagonista de la alta cocina utilizado por Chefs de alto prestigio, que a comparación del uso que se le da comúnmente en México, la nueva cocina transforma el huitlacoche en budines, cremas y algunas salsas para acompañar cortes de carne.

Se le ha reconocido en algunas revistas y periódicos internacionales de renombre como el "The New York Times", "Bon Appétit", "Vogue", entre otras (Company, 2019; Fabricante, 2019; Morales, 2024).

El conocimiento puntual del contenido nutrimental del huitlacoche ha provocado alzas en los precios del mercado Estadounidense, alcanzando precios de hasta 20 USD por kilo en presentación congelada y de manera fresca los precios oscilan entre los 11 y 3 USD en mazorcas, con mayor demanda en los meses de Julio y Agosto (Calderón *et al.*, 2010).

2.3 Aspectos botánicos

El huitlacoche es un hongo parasitario que forma una serie de protuberancias globulosas llamadas agallas o soros, son carnosas determinadas por una membrana que va de tonos grisáceos hasta blanquecinos y por dentro toman un color oscuro, cuando estén en etapa madura suelen ser polvorosas esta misma condición permite

Comentado [XR2]: En las citas debes quitar unos paréntesis y organizarlos por orden alfabético por ej. (Company, 2019; Fabricante, 2019; Morales, 2024).

que libere sus esporas, responsables a su vez de la tonalidad oscura dentro de la agalla ya que las esporas se encuentran melanizadas. De sabor agradable con notas dulces y poco ahumadas.

Como un alógeno una vez instalado en el hospedero (*Zea mays*) algunos síntomas de dicha infección son: deformidades, acumulación de antocianinas, clorosis y enanismo de la planta (Armendáriz *et al.*, 2021).

2.3.1 Taxonomía

De acuerdo con Azúa *et al.* (2011) la taxonomía del huitlacoche sería de la siguiente manera:

Reino: Fungí

Phyllum: Basidiomycota

Clase: Heterobasidiomycetes

Familia: Ustilaginaceae

Género: *Ustilago*

Especie: *Ustilago maydis* Corda

2.3.2 Fenología

El ciclo biológico del huitlacoche inicia con la germinación de las esporas que son las responsables de generar un primer micelio dentro de la planta hospedera en cualquiera de sus partes, en este caso las inflorescencias femeninas se ven involucradas para la futura formación del huitlacoche.

Como segunda parte de este ciclo es la formación del micelio secundario que se formara dentro del tejido de manera profunda que no será visible, y se formaran una especie de paquetes que crecerán de manera amorfa con una pigmentación negra delimitados por una membrana blanquecina y estos serán los soros o mejor conocidas como agallas.

Después de este proceso viene la esporulación que dará paso al inicio del ciclo una vez se encuentre en la tierra de siembra en conjunto con otros factores que propicien la inoculación nuevamente (Azúa *et al.*, 2011).

2.4 Manejo del cultivo

En la actualidad podemos hablar sobre obtener un cultivo específicamente de huitlacoche ya que se ha buscado la manera de tener un rendimiento por la demanda del consumidor, todo esto de manera artificial ya que hablamos de un hongo patógeno que causa la infección natural del cultivo de *Zea mays*.

- Inoculación de manera natural

La aparición del hongo no es planificada ya que la infección se da de manera natural y en caso de no ser controlada podría causar pérdidas significantes para el cultivo. La proliferación del hongo depende de varios factores ambientales como la humedad relativa y la temperatura (González *et al.*, 2016).

- Inoculación de manera artificial

El interés por este hongo ha aumentado la demanda de consumo así que los agricultores han buscado la manera de reproducirlo de forma artificial tomando en cuenta todos los factores ambientales que se requieren para su reproducción, dando la oportunidad de tener el cultivo disponible durante todo el año de ser posible. Anteriormente los agricultores molían el huitlacoche formando una pasta que posteriormente untaban en las inflorescencias, pero este hecho no aseguraba la producción ya que solo se saturaba a la planta de otras sustancias que principalmente no generarían el hongo porque son esporas que solo siguen su ciclo una vez estando en la tierra de cultivo (Azúa *et al.*, 2011).

Los agricultores han buscado alternativas guiadas por la ciencia, desarrollando técnicas eficaces que permitan tener una producción alta, realizando experimentos en algunas variedades que permitan que se logre el huitlacoche en la planta mediante la infección artificial.

La secuencia de esta técnica nos habla de aislar el hongo para preparar una solución que después será inyectada en los jilotes, técnica que ha registrado buenos resultados de producción de huitlacoche (Salazar, 2021).

2.4.1 Cosecha

La cosecha dependerá de varios factores ambientales de la zona donde se cultiva, para ello se debe de cumplir con algunos aspectos que aseguran la calidad de la cosecha que a continuación se describirán:

- Mazorca agrandada por la presencia de las agallas turgentes y abombadas.
- Coloración verde pálido en brácteas.
- Se debe evitar la deshidratación de las agallas por exceso de horas sol.

La cosecha se realiza normalmente entre los meses de Agosto y Septiembre a los 30 días después de la inoculación (Cuauhtémoc, 2020).

Entre las fechas de cosecha natural el precio del huitlacoche esta alrededor de los \$15 pesos mexicanos y cuando no es temporada el precio puede aumentar hasta los \$60 y \$120 pesos, en casos extremos ha llegado a costar hasta \$380 pesos. Con una capacidad de cosecha de 7 a 15 toneladas por hectárea por inoculación (Torres, 2018).

2.4.2 Especies susceptibles al huitlacoche

La proliferación del hongo *Ustilago maydis* depende mucho de factores ambientales que favorecen directamente al desarrollo del huitlacoche, pero hay variedades de *Zea mays* que son más susceptibles al contagio del hongo como las variedades dulces.

La resistencia al hongo depende de varios factores como genéticos y características fisiológicas y morfológicas.

La ciencia se ha encargado de hacer mejoras en híbridos para tratar la resistencia a este hongo, López *et al.* (2019) realizaron un estudio sobre la inoculación de huitlacoche en especies híbridas de maíz dulce de manera artificial para medir el rendimiento de huitlacoche por planta inoculada siendo la variedad TROMBA con 131.2 gramos por mazorca.

Un estudio sobre ocho variedades criollas de *Zea mays* (Salazar *et al.*, 2018) habla sobre la importancia económica de las variedades que fueron susceptibles a *Ustilago maydis* de inoculación artificial ya que no es necesario de comprar material biológico mejorado ya que se cuentan con suficiente material de germoplasma nativo.

2.4.3 Insectos que atacan al huitlacoche

El cultivo de huitlacoche también es cultivo vulnerado por insectos que perjudican su calidad. Los insectos que son más incidentes en el cultivo son de orden Coleóptera y Lepidóptera (Vega, 2019).

2.5 Características nutrimentales en el huitlacoche

Los hongos comestibles normalmente se eligen por su sabor y por la versatilidad para preparar diversos platillos. El huitlacoche además de su exquisito sabor posee un contenido nutricional importante que resalta en algunos estudios científicos llevados a cabo para tener más conocimiento del cultivo (Méndez *et al*, 2019).

El huitlacoche tiene un alto contenido fibra y proteína al igual de ácidos grasos esenciales, carbohidratos, vitaminas y minerales. *Ustilago maydis* contiene niveles mayores de fenoles a comparación de los niveles de la manzana y el frijol.

La variedad de maíz determina algunas características fisicoquímicas como acidez, vitaminas, grados Brix, contenido de lisina y triptófano. Se reportan con bajos niveles de grasa y altos en vitaminas y ácido fólico (Salazar *et al.*, 2021).

2.5.1 Ácidos grasos

El huitlacoche tiene contenido bajo de grasas saturadas y colesterol, pero presenta contenidos alto de ácidos grasos esenciales, como el ácido oleico, linolénico, palmítico y linoleico este ultimo de más importancia por tratarse de un ácido graso esencial (Cuadro 1) (Calderón *et al.*, 2010).

Cuadro 1 ácidos grasos presentes en el huitlacoche

Ácido grasos	Content (%)
Ácido mirístico	0.44
Ácido pentadecanoico	0.67
Ácido palmítico	14.79
Ácido palmitoleico	2.10
Ácido margárico	0.51
Ácido esteárico	3.94
Ácido oleico	42.49
Ácido linoleico	26.97
Ácido linolénico	0.84
Ácido araquídico	2.86
Ácido 11-eicosenoico	4.39

Fuente: Méndez *et al.*, 2019.

2.5.2 Contenido proteico

Existen diferentes variedades de hongos que son usados exclusivamente como alimento, entre ellos el hongo seta y el champiñón, pero a comparación del huitlacoche este último representa una fuente proteica importante que incluso está por encima de los niveles de aminoácidos establecidos por la FAO para la alimentación de un individuo adulto. La lisina representa el 14.84% de todos los aminoácidos que se encuentran dentro del huitlacoche, es el aminoácido más abundante (Salazar *et al.*, 2021).

2.5.3 Vitaminas y minerales

El huitlacoche tiene altos niveles de minerales como el hierro, zinc, potasio, calcio, cobre, incluso algunos autores reportan altos índices de magnesio y fósforo, toda esta variante de minerales depende mucho de las condiciones ambientales y físicas en donde se desarrolle el cultivo (Méndez *et al.*, 2019).

En cuanto a las vitaminas el huitlacoche presenta un contenido alto de vitamina C, niacina, biotina, riboflavina y ácido fólico (Cuadro 2) (Salazar *et al.*, 2021).

Cuadro 2. Contenido de algunos minerales presentes en la Huitlacoche

Minerales	Contenido (mg·Kg ⁻¹)
Fósforo (P)	342.07 a 390.0
Magnesio (Mg)	262.69
Calcio (Ca)	18.61 a 60.0
Sodio (Na)	12.06
Hierro (Fe)	2.85
Zinc (Zn)	2.51
Manganeso (Mn)	1.91

Fuente: (Méndez *et al.*, 2019)

2.5.4 Azúcares

Varios estudios reportan que el huitlacoche contiene alrededor de 27 carbohidratos de los cuales solo 16 se pueden identificar a plenitud. La fructosa y la galactosa conforman el 80% de los carbohidratos totales dentro del hongo, además es rico en azúcares libres como la galactosa, xilosa, glicerol, sorbitol, manosa, manitol y arabinosa que son de fácil digestión (Méndez *et al.*, 2019).

2.5.5 Actividad antioxidante

Entre las características nutrimentales del huitlacoche destacan los componentes antioxidantes como los fenoles y flavonoides. Al llevar a cocción el huitlacoche aumenta la actividad antioxidante, dicha actividad previene que exista daño en moléculas importantes en el organismo humano (Méndez *et al.*, 2019).

Para identificar ingredientes bioactivos en el huitlacoche existen diferentes técnicas como las empleadas en el artículo escrito por Buenrostro *et al.* (2022), donde se

identificó la actividad antioxidante mediante DPPH y ABTS, comparando diferentes métodos como la maceración y extracción asistida por ultrasonido para obtener el mayor contenido de compuestos fenólicos.

2.6 Alimentos funcionales

Los alimentos funcionales (AF's) son aquellos que actúan a beneficio de los organismos en diferentes funciones. Tienen un impacto bueno en la salud si estos alimentos se consumen con regularidad. Estos previenen y reducen enfermedades a las cuales todo ser humano está expuesto, los alimentos funcionales deben incluirse en la dieta sana que se suministra normalmente de la misma manera como se consumiría otro tipo de alimento (Aranceta, 2019).

Actualmente existen diferentes definiciones de lo que es un AF, y diferentes organizaciones le han dado su propia versión, pero sin dejar a un lado la importancia del beneficio como los alimentos en sí.

El Consejo de Nutrición y Alimentación de la Academia de Ciencias de los Estados Unidos dice que los AF son aquellos alimentos o ingredientes que comprueben el beneficio sobre el organismo humano y que los riesgos de padecer una enfermedad disminuyan.

Internacional Life Sciences Institute nos dice que los AF son aquellos activos que contiene un alimento que actúan en el organismo más allá de nutrir, que son específicos y únicos en un alimento en particular.

El Centro de Información Internacional de Alimentos refiere que los AF son aquellos ingredientes que se pueden adicionar intencionalmente a un producto para que esté llame la atención del consumidor, conceptualmente definen que un alimento saludable es aquel que no se ha corrompido de alguna manera y conserva sus características organolépticas adecuadas para una buena nutrición.

Europa maneja estos alimentos como nutraceuticos que se pueden ingerir de manera normal durante la dieta diaria y rechaza la transformación de estos en forma de comprimidos u otra presentación (Araya *et al.*, 2023).

En la actualidad se han realizado innovaciones de pan con la adición de diversos ingredientes que nos ofrezcan propiedades nutraceuticas y así aumentar sus valores terapéuticos y crear así un pan funcional (Mudgil, 2016).

2.6.1 Beneficios del huitlacoche como alimento funcional

El huitlacoche además de ser considerado una pieza gourmet gastronómica nos ofrece ciertas propiedades nutricionales que suelen beneficiar a nuestro sistema de diferentes maneras. Contiene ácidos grasos que nos benefician a la regulación de la presión arterial, además de que actúa como un antiinflamatorio sin dejar de lado los aminoácidos esenciales que nos ayudan para la formar colágeno. Los aminoácidos esenciales encontrados en el huitlacoche ayudan al fortalecimiento de los huesos y dientes porque absorben el calcio.

Los flavonoides y ácidos fenólicos son responsables de algunas mejoras para la salud que se hacen presentes como anticancerígenos en algunos casos, también presenta niveles altos de actividad antioxidante (CONAHCYT, 2022).

Buenrostro *et al.* (2022) menciona que los ingredientes bioactivos que el huitlacoche tiene poseen propiedades funcionales y actúan sobre padecimientos como la diabetes, hipertensión además funciona como un antiinflamatorio y antimicrobiano, pero de manera más compleja se puede mencionar que actuaría como anticancerígeno, e inmunomodulador para combatir infecciones.

2.7 Pan

El pan es una de las bases fundamentales de la alimentación o por lo menos los productos elaborados a base de la molienda de diversos cereales.

Se reportan hallazgos de evidencias de estas mezclas desde hace 8000 años aproximadamente. Se cree que aquellas civilizaciones recolectaban los granos de trigo y los molían con agua, esto formaba una masa pesada que después se cocía en piedras calientes. Los restos de masa no se desechaban por el contrario eran reutilizados para la elaboración de más masa, después de un tiempo observaban que esta masa ya había duplicado su tamaño y en su interior se habían formado burbujas. Al final obtenían un producto más blando que el anterior, se cree que estos fueron los principios de lo que

hoy conocemos como masa madre. El pan es un producto necesario que equilibra la alimentación aportando nutrientes funcionales que aporta energía (Pan, 2022).

En Egipto fueron hallados bajo relieves donde representaban la elaboración de pan, se cree esta civilización fue la pionera en recurrir a métodos de fermentación para la elaboración de su producto (Mesas *et al.*, 2022).

Existe evidencia de la elaboración del pan de manera rustica y de los procesos de fermentación desde la época de Troya hasta la Asia misma (Ushiñahua, 2020).

Los Galos utilizaban la espuma de la cerveza para elaborar pan una práctica muy común en Europa por muchos años, esta técnica fue sustituida por la adición de residuos de fermentos de cereales.

Al paso del tiempo los estudios sobre las levaduras de Pasteur permitieron obtener una levadura específica del pan llamada *Saccharomyces cerevisiae* (Mesas *et al.*, 2020).

Se denomina pan fermentado cuando se le han agregado levaduras y pan ácimo cuando no se le agrega ningún tipo de levaduras o fermento (Bravo, 2010).

Actualmente se cuenta con una gama alta de ingeniería panificadora mecanizada que se requiere de harina de alta calidad con la cual se elabora el pan, la cual es la responsable de las características futuras después del horneado de la masa, los pasos a seguir de una elaboración de pan son: mezcla de los ingredientes, amasado, tiempo de fermentación, forma del pan y horneado. (Ushiñahua, 2020).

Los atributos de calidad de un buen pan recaen en la calidad de harina con buen contenido de gluten y así conformar un pan con cierto volumen, ello depende de la adición de los ingredientes en cantidades puntuales y un horneado adecuado (Różyło, 2011).

2.7.1 Harina

Al producto obtenido de la molienda de trigo sin la capa exterior de la semilla únicamente se le denomina “Harina”, ya que si se habla de otros granos se debe especificar de qué es la harina. Si en la molienda se incluyen todas las partes del grano a esta harina la llamaremos integral (Mesas *et al.*, 2022).

Según la NOM-247-SSA1-2008 la harina es la molienda de un grano de trigo que ya está seco del género *Triticum* y sin salvado (Salud, 2008).

2.7.2 Harina de huitlacoche

El desarrollo de la práctica para la obtención de harina de huitlacoche inicia con la recolección del huitlacoche en condiciones óptimas, el hongo se limpia y se retiran agentes externos a este, una vez limpio se pone a deshidratar en un horno deshidratador de alimentos a 70°C alrededor de 3 horas aproximadamente, después de este proceso se somete a la molienda y finalmente pasa por un tamizador para obtener un polvo fino que será la harina de huitlacoche (Carnalla, 2020). La ciencia se ha encargado de estudiar sobre la adición de diversas harinas vegetales en la harina de trigo para comprobar su acción como alimento funcional, pero no siempre se ha tratado del tema de la salud, en 2005 el gobierno de Nigeria ordeno que a la harina de trigo se le agregara un 10% de harina de yuca para reducir los gastos de importación tratándose de un tema económico (Mo, 2020).

2.7.3 La fermentación en el pan

La fermentación es un proceso microbiológico natural que se ha usado desde hace muchos años para la elaboración de alimentos, proceso que le aporta sabor además de que es capaz de transformarlo para poder alargar su vida de anaquel y aporta beneficios nutricionales. El primer fermento para el pan se lleva a cabo mediante levaduras presentes en el medio natural en la harina, a este fermento se le llama masa madre y de manera directa se agregan a la preparación levadura ya procesada.

Durante la fermentación la preparación para la masa sufre procesos químicos y biológicos que permiten que tengan ciertas características buscadas por el productor del alimento, como volumen, textura y sabor. Existen factores determinantes que interfieren para el proceso de fermentación como la temperatura, agua, acidez del medio y la cantidad de monosacáridos disponibles para mantener la levadura activa (Borsuk, 2021).

2.7.4 Horneado del pan

El horneado es el proceso de aplicación de calor a ciertas temperaturas en un campo cerrado que genera un cambio drástico que elimina en parte la humedad y entra en juego la reacción de Millard que es la caramelización de los carbohidratos que generan

un color dorado aceptable y armónico para la presentación del alimento en este caso el pan.

El horneado de pan se considera la transformación final que se une a una relación entre ingredientes, tiempo y temperatura ya que como producto se desea que tenga un buen color externo, pero sobre todo que la acción de hornear consiga una miga suave pero bien cocida y todo esto en un mismo tiempo (Reinhart, 2020).

2.7.5 Pan de barra

El pan de barra o pan de molde es un pan que se complementa con diferentes ingredientes a los que comúnmente se elabora con harina de trigo, leche, huevo aceite o mantequilla, se hornea dentro de un molde previamente engrasado, como resultado obtendremos un pan alargado de cierto grosor con una corteza crujiente y dorada.

El pan de barra o pan de molde es un tipo de pan alemán cortado en rebanadas en presentación blanca o integral, la adición de diversas harinas hace que tenga una vida de anaquel más larga ya que se le pueden agregar diferentes ingredientes que hacen más llamativo a este producto.

Fue inventado por un empresario en el año de 1928 que llevando más allá la funcionalidad de un molde para carne pensó que este molde también podría funcionar para el pan, esta innovación rápidamente se posicionó con éxito en el mercado, teniendo una alta demanda por el consumidor (Madina, 2022).

Este tipo de pan lleva más azúcar que a comparación de los demás panes franceses para emparedados y se le agrega un poco más de grasa, esto hace que se pueda conservar más en congelación, de sabor neutro para poder disfrutar otros sabores a la hora de consumirlo (Hitz, 2020).

2.8 Consumo de pan en México y el mundo

Debido a la alta demanda de productos derivados de la panificación la FAO estima que para el año 2050 se necesitaran alrededor de 840 millones de toneladas de trigo a comparación del consumo actual de 642 millones de toneladas a nivel mundial, dejando de lado la producción de otros productos derivados del trigo como la industria alimentaria dedicada a los animales (Mohamed *et al.*, 2014).

El pan es uno de los productos que se consumen mundialmente, Alemania es el principal país europeo con un consumo de 120 kg per cápita, en Latinoamérica uno de los países con mayor consumo lo tienen Chile con 96 kg per cápita (Vega *et al.*, 2015).

A pesar de tratarse de un alimento de origen europeo el pan ha significado una pieza importante en la cultura mexicana aportando sus propias características tales como el pan de muerto. Un pan que refiere a la celebración del día 2 de noviembre el día de los muertos. Datos estadísticos por parte del CANAINPA (Cámara Nacional de la Industria Panificadora) el consumo anual en México es de 33.5 kg per cápita.

El consumo principal lo tiene el pan blanco con un 70%, el resto es de otros productos derivados de la panificación como las galletas. Los estados con mayor producción panificadora es la Ciudad de México, Estado de México, Michoacán, Sonora, Oaxaca, Puebla y Veracruz (Economía, 2017).

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

La parte experimental de este trabajo se llevó a cabo en tres diferentes laboratorios de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro situada en la ciudad de Saltillo, Coahuila.

La elaboración del producto se trabajó en el Laboratorio 1 del Departamento de Ciencia y Tecnología en Alimentos, así como los análisis físicos del producto, después continuamos con el análisis sensorial que se realizó en este Departamento en laboratorio de Evaluación Sensorial, y los análisis bromatológicos se realizaron en el Laboratorio de Bioquímica del Departamento de Ciencias Básicas.

Para la elaboración del pan de barra se utilizaron los siguientes ingredientes:

- Harina de Huitlacoche (obtenida en el laboratorio por el secado del huitlacoche que se desarrolló en maíz cultivado en los campos de la UAAAN)
- Harina de Trigo SELECTA ®
- Huevo SAN JUAN ®
- Levadura en polvo TRADI PAN ®
- Polvo para hornear ROYAL®

- Azúcar ZULKA ®
- Sal LA FINA ®
- Arándano AL SUPER ®
- Chía AL SUPER ®
- Mantequilla en barra GLORIA ®
- Spray sabor mantequilla PAM ®
- Leche SANTA CLARA ®

Los materiales que se utilizaron durante la elaboración del producto y los análisis de laboratorio:

Materiales

- Cucharas medidoras
- Recipientes de plástico 500 mL
- Tazón para mezclar
- Palas Miserables
- Moldes para pan molde o barra
- Tabla de madera
- Cuchillo
- Charolas de aluminio
- Tela de Lino
- Papel aluminio
- Papel filtro
- Manguera para laboratorio
- Espátula
- Pizeta
- Cartucho de papel para filtrar
- Crisoles
- Perlas de vidrio
- Varilla de Vidrio
- Pinzas para Crisol

- Gradillas
- Embudo de filtración
- Vasos precipitados de 50 y 250 mL PYREX
- Vaso de Berzelius
- Matraz Erlenmeyer 500 y 250 mL KIMAX
- Matraz bola de 500 mL
- Matraz Kjeldahl de 800 mL
- Pipeta graduada de 10 mL
- Tubos de ensayo
- Probetas graduadas de 100 y 50 mL
- Celdillas para espectrofotómetro
- Tubos de cultivo con tapón de rosca de 18 mm x 150 mm
- Tubos cónicos para centrifuga

Equipos

- Horno Deshidratador
- Báscula de semianalítica
- Báscula analítica
- Batidora de mano
- Horno de Estufa
- Colorímetro minolta CR-400
- Penetrometro EXTECH
- Medidor Digital de Actividad del Agua
- Horno Mufla thermos Cientific
- Desecador
- Horno Desecador
- Equipo de Digestión y Destilación Kjeldahl
- Equipo Soxhlet
- Espectrofotómetro GENESYS 10 uv
- Centrifuga Thermo Fisher Scientific mod. Heraeus R

- Vortex

Se utilizaron diferentes reactivos para realizar la parte bromatológica, así como la determinación de actividad antioxidante y componentes bioactivos.

Reactivos

- Sulfato de potasio
- Sulfato de cobre
- Ácido bórico al 4%
- Agua destilada
- Sulfato férrico de amonio
- HCL-Terbutanol
- Radical DPPH
- Radical ABTS
- Buffer ácido Acético- Acetato de sodio
- Hexano
- Hidróxido de sodio al 0.313 N
- Ácido sulfúrico concentrado
- Ácido sulfúrico 0.1 N
- Ácido sulfúrico 0.255 N
- Fenol sulfúrico
- Sacarosa

3.1 Deshidratación del huitlacoche

La deshidratación es un proceso importante para llevar a cabo nuestro análisis del pan de barra a base de huitlacoche. La materia prima (*Ustilago maydis*) se obtuvo de los cultivos de *Zea mays* de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

El huitlacoche se sometió a una inspección previa para retirar cuerpos extraños, después de lavó y desinfectó. Se colocó en el deshidratador a una temperatura de 60°C durante 48 horas, después se sacó y se sometió a molienda para obtener el polvo fino de huitlacoche con el cual se elaboró el pan.

3.2 Elaboración del pan de barra a base de huitlacoche

Se elaboró una barra de pan a base de harina de Huitlacoche (*Ustilago maydis*) donde se utilizaron tres formulaciones, las cuales fueron expuestas a diferentes pruebas y análisis para determinar la composición del pan, además de comprobar la aceptabilidad y nivel de agrado del consumidor con el producto terminado.

Dos de ellas se componían con cierto porcentaje de harina de Huitlacoche (HH) y la muestra testigo empleando únicamente harina de trigo (HT).

La elaboración del pan de barra a base de huitlacoche se complementó con algunos ingredientes como la chía y arándanos, ingredientes que dieron un plus a nuestro pan.

La harina de huitlacoche se obtuvo del proceso de deshidratación del huitlacoche en fresco.

En el primer tratamiento elaboramos el pan solo con harina de trigo para que fungiera como tratamiento control, en el segundo y tercer tratamiento tenemos una distribución de 50% harina de trigo 50% harina de huitlacoche y 75% de harina de trigo 25% harina de huitlacoche respectivamente. Las adiciones de los demás ingredientes son propios de la elaboración de un pan común.

El huitlacoche que se utilizó para la elaboración de este experimento fue obtenido de los cultivos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, después de la molienda se obtuvo un polvo que se incorporó de manera adecuada a la mezcla propia del pan de barra, el olor de este polvo es dulce.

Las formulaciones se hornearon a 180°C. durante 30 minutos, con buenos resultados sensoriales.

Cuadro 3. Porcentajes de los ingredientes por tratamientos (T1 100%HT, T2 50% HH, T3, 25% HH).

Ingredientes	T1	T2	T3
harina de trigo	29.30%	14.65%	21.97%
harina de huitlacoche	0	14.65%	7.32%
huevo	6.27%	6.27%	6.27%
levadura	0.58%	0.58%	0.58%
polvo para hornear	0.12%	0.12%	0.12%
azúcar	0.12%	0.12%	0.12%
sal	0.12%	0.12%	0.12%
arándano	2.93%	2.93%	2.93%
chía	2.93%	2.93%	2.93%
mantequilla	5.86%	5.86%	5.86%
leche	51.73%	51.73%	51.73%

3.3 Análisis sensorial

Durante muchos años la relación de aceptabilidad o rechazo de un producto alimenticio ha creado diferentes estudios para medir diferentes características del producto por medio de nuestros sentidos para satisfacer nuestras necesidades alimenticias.

El análisis sensorial es una ciencia que se encarga de medir la aceptabilidad del alimento mediante los sentidos de quien está evaluando, de esto depende la calidad del producto (Hernández, 2011).

Se llevó a cabo una prueba hedónica en el laboratorio de Análisis Sensorial donde un panel semientrenado de 43 personas evaluaron los tres tratamientos con los cuales se trabajó. En esta prueba se calificaron características sensoriales para saber el nivel de agrado del producto tales como: Apariencia global, color, olor, sabor, textura y aceptación global.

Durante el desarrollo de la prueba los panelistas recibieron una hoja de evaluación donde se les indico el procedimiento para evaluar los atributos por tratamiento.

Primero se les colocó a cada uno en un cubículo que contaba con el equipo necesario para evaluar como: vaso con agua para enjuagar la boca, popote, vaso de desechos, servilleta, lapicero y hoja de evaluación (Fig. 2).



Figura 2 Cubículos del laboratorio de Análisis Sensorial.

La hoja de evaluación contaba con una escala verbal nombrada “A” que medía el nivel de agrado que iba desde muy agradable con calificación 7 hasta muy desagradable con una calificación de 1 y una escala verbal “B” que describe la textura del pan desde muy esponjoso con calificación 7 hasta muy firme con calificación 1.

Para las muestras se cortaron las barras de pan en forma de cuadrados de 3x2 cm. aproximadamente y se colocaron en una charola de unicel, consecuentemente se les asignó un código de tres cifras aleatorias para identificar cada uno de los tratamientos (Fig. 3).



Figura 3. Muestras de los tres diferentes tratamientos de izquierda a derecha, tratamiento 1 (T1) con 100% de harina de trigo (HT), tratamiento 2 (T2) con 50% de harina de huitlacoche (HH) y tratamiento 3 (T3) con 25% de harina de huitlacoche (HH).

3.4 Análisis bromatológico

3.4.1 Determinación de humedad

Para la determinación de humedad se pesaron 2 gramos de cada tratamiento y las colocamos en crisoles, estos crisoles los dejamos dentro del horno de desecado por 12 horas, determinamos el porcentaje de humedad mediante la siguiente ecuación, aclarando que para llegar a este porcentaje primero evaluamos cuanta materia seca había en nuestra muestra:

$$\%MS = \frac{\text{gramos crisol con la muestra} - \text{gramos del crisol}}{\text{peso de la muestra}} * 100$$

$$\%H = (100 - \text{materia seca})$$



Figura 4. Desecador con muestras de los tres tratamientos para determinar porcentaje de humedad.

3.4.2 Determinación de cenizas

En este caso se trabajó con los crisoles de la determinación de porcentaje de humedad, las muestras secas se incineraron en la mufla de marca BLUEM a 600°C durante 2 horas aproximadamente, se dejó en el desecador durante 1 hora y se registró la muestra a peso constante, el porcentaje final de cenizas se obtuvo mediante una formula.

$$\%C = \frac{\text{gramos crisol con muestra seca} - \text{gramos del crisol}}{\text{gramos de crisol con ceniza}} * 100$$



Figura 5. Desecador con muestras incineradas.

3.4.3 Determinación de proteína cruda

Para la determinación de proteína se realizó una digestión ácida, se pesó 1 gramo de muestra, se colocó en papel filtro de manera segura para evitar que la muestra se saliera (Fig. 6).



Figura 6. Muestras secas en papel filtro.

Se introdujo el papel filtro con la muestra dentro de un matraz bola en el equipo de Kjeldahl y le agregamos perlas de vidrio para evitar ebulliciones violentas, esta reacción no debía superar los 350°C, luego se le agregó una cucharada de sulfato de potasio y sulfato de cobre que es la mezcla catalítica, se le añadieron 25 mL de ácido sulfúrico.

El matraz se colocó en el equipo hasta que la mezcla se volvió a un color claro, este proceso se llevó a cabo durante 2 horas aproximadamente hasta que se descompuso la materia orgánica, retiramos el matraz del equipo y se dejó enfriar durante 30 minutos.



Figura 7. Matraz bola con muestras en papel filtro.

Como segunda parte para la determinación de proteína se realizó una destilación. Añadimos 300 mL de agua destilada en el matraz Kjeldahl, el producto que se obtuvo de la digestión ácida, para la destilación se le agregaron 4 gramos de zinc metálico y 110 mL de hidróxido de sodio al 40%, en un matraz Erlenmeyer se añadieron 50 mL de ácido bórico al 4% y 10 gotas de colorante mixto, este matraz se colocó de bajo del condensador para que cayera el destilado, una vez colocados ambos matraces se cerraron las trampas del equipo Kjeldahl y se encendió al máximo, obtuvimos alrededor de 200 a 250 mL por tratamiento (Fig. 8 y 9).



Figura 8 Descomposición de la materia orgánica en matraz bola.



Figura 8. Destilación

En una bureta de 25 mL se llenó con ácido sulfúrico al 0.1N y se colocó por debajo el matraz con el producto de la destilación, se retiró hasta que se observó el primer cambio de coloración de la solución, es decir que alcanzó el punto de equivalencia.

(*N de H_2SO_4 : 0.10091132 mL del Blanco: 1.7 mL*)

Los datos obtenidos durante esta determinación se sustituyeron en la siguiente ecuación que nos da el porcentaje de nitrógeno.

$$\%N = \frac{(Gasto\ de\ H_2SO_4)(Normalidad\ H_2SO_4)(0.014)}{gramos\ de\ la\ muestra} * 100$$

Consecuentemente con el resultado del porcentaje de Nitrógeno calculamos el porcentaje de proteína cruda.

$$\%P = (\%N)(6.25)$$

3.4.4 Determinación de grasa

Para la determinación de grasa se ocuparon matraces bola de fondo plano que posteriormente se colocaron en el equipo de Soxhlet, método por el cual se hacen las determinaciones de grasa.

Se colocaron perlas de vidrio en los matraces y en seguida se encendió la estufa marca NOVATHEC durante toda una noche a 100°C, después del tiempo concurrido sacamos los matraces y los dejamos enfriar durante 30 minutos para después pesarlos y obtener el peso constante del matraz (Fig. 10).



Figura 9. Equipo para la determinación de grasa por el método de Soxhlet

Por otro lado, se pesaron 4 gramos de nuestra muestra en papel filtro y luego se introdujeron en dedales de celulosa limpios y correctamente identificados. Colocamos estos dedales dentro del sifón de extracción.

Se agregaron 220 mL de hexano en los matraces de bola colocándonos de bajo del sifón y sobre una parrilla de calentamiento, se encendió el equipo activando la bomba de recirculación para que empezara el flujo de agua, se rellenó de anticongelante para evitar el calentamiento total del equipo, durante el proceso se encendió la parrilla y se dejó durante 12 horas.

Recurrido el tiempo, se sacó el dedal del sifón y se guardó esta muestra para determinar fibra cruda, el proceso termina una vez que el solvente se haya consumido en su totalidad, el matraz de bola se deja enfriar a temperatura ambiente durante 50 minutos, después de este tiempo los matraces se colocan dentro de la estufa de desecado a una temperatura de 80°C durante 24 horas, posteriormente se dejan en un desecador durante otros 50 minutos, después se pesa y se obtiene el dato del peso contante para sustituir en la ecuación de obtención del porcentaje de grasas totales.

$$\%G = \frac{(\text{peso matraz} - \text{Peso Inicial del matraz})}{\text{Gramos de Muestra}} * 100$$

3.4.5 Determinación de fibra cruda

Para obtener los porcentajes de fibra cruda se llevaron a cabo dos tipos de digestiones, la digestión ácida y la digestión alcalina y en este orden se ejecutaron.

- Para la digestión ácida se pesaron 2 gramos de materia seca y sin grasa, se colocaron en un vaso de Berzelius de 600 mL, por otro lado, se midió 100 mL de ácido sulfúrico 0.255 N y los agregamos al vaso de Berzeluis con la muestra seca, luego el vaso se colocó en el equipo digestor durante 30 min, después de este tiempo concurrido se filtró el contenido en un embudo con tela de lino y se hicieron constantes lavados de agua destilada caliente para quitar la acidez de la muestra.
- Luego se continuo con la digestión alcalina, colocando el residuo filtrado en el mismo vaso de Berzelius, se midieron 100 mL de hidróxido de sodio a 0.313 N. y se agregó en el vaso, nuevamente colocamos el vaso en el equipo digestor

durante 30 min. y después de este tiempo se llevó a cabo el filtrado con agua destilada caliente para quitar el hidróxido (Fig. 11).

La muestra filtrada se colocó en la estufa de desecado durante 24 horas a 90°C, se sacó la muestra y se pesó, por último, esta misma muestra se introdujo a la mufla a una temperatura de 600°C para obtener las cenizas y nuevamente se tomó el peso y mediante una ecuación se obtuvo el porcentaje final de fibra cruda de nuestra muestra (Fig. 12).

$$\%FC = \frac{(\text{peso de crisol estufa} - \text{peso de crisol mufla})}{\text{gramos de muestra}} * 100$$



Figura 10. Primera digestión para determinar fibra cruda.



Figura 11. Residuo de digestión (fibra).

3.4.6 Determinación de carbohidratos

Para esta determinación se trató la muestra bajo las condiciones de muestra seca, se tomaron 2 gramos de la muestra deshidratada, y se agregaron a un vaso de precipitado junto con 10 mL de agua destilada, luego se agito y se filtró, el extracto se colocó en un tubo de ensaye y se mantuvo sobre una cama de hielo esto nos ayudó para que la muestra no se oxidara. Se le añadieron 2 mL de fenol sulfúrico y se puso a baño maría durante 5 minutos y se hizo la lectura en el espectrofotómetro a una longitud de onda a 480 nanómetros.



Figura 12. Determinación de Carbohidratos para los tres tratamientos.

Para la elaboración de la curva se preparó una solución de 0.2 a 1 g/L. Se agregó a un matraz de aforación de 100 mL 0.1 gramos de sacarosa y se aforo con agua destilada en otro matraz de la misma capacidad se agregó 1 gramo de fenol y se aforo con ácido sulfúrico. Estas soluciones se dividieron en 6 tubos de ensaye de cada solución preparada, se repitió el procedimiento final de la determinación de la muestra con 2 mL de Fenol Sulfúrico y se hizo la lectura a 480 nm. Estos datos se graficaron en Excel con una variación de 0.99 (Cuadro 4).

Es importante llevar un orden para preparar las soluciones de sacarosa y agua destilada.

Cuadro 4. Soluciones por tubos de ensayos para determinar azucares totales

Tubos	0	1	2	3	4	5
Sacarosa	0 µL	200 µL	400 µL	600 µL	800 µL	1000 µL
Agua Destilada	1000 µL	800 µL	600 µL	400 µL	200 µL	0 µL

(Du Bois, 1956)

3.5 Análisis físico

3.5.1 Color

Esta evaluación se llevó a cabo con la ayuda de un colorímetro digital de marca KONIKA MINOLTA CR-400, el equipo se colocó encima de un trozo de muestra, en automático el quipo arrojó los resultados, estos se consideraron en escala L, a y b (Galdino *et al.*, 2022).

3.5.2 Actividad de agua (Aw)

La actividad de agua con sus siglas en inglés Aw Activity water se determinó mediante un medidor de actividad de agua modelo WA-60A para alimentos, la muestra fresca se colocó en un recipiente tipo caja Petri y sobre esta se colocó el aparato, se presionó el botón de POWER-TX y en automático arrojó el resultado, esta prueba se realizó con todos los tratamientos y por triplicado.



Figura 13. Determinación de actividad de agua (Aw) de los tres tratamientos.

3.5.3 Firmeza

Para esta prueba utilizamos un Penetrómetro digital de marca EXTECH que midió en Newton la firmeza del producto, el equipo se colocó sobre la barra de pan y así se obtuvieron los resultados para la firmeza, la prueba se realizó por triplicado.

3.6 Análisis de los componentes bioactivos

3.6.1 Determinación de flavonoides

Para determinar flavonoides primero se acondiciono el tratamiento para la realización de esta técnica, se colocaron 10 gramos de la muestra en un matraz Erlenmeyer y se le añadieron 50 mL de agua destilada a 60°C, la solución se colocó dentro la estufa durante 30 minutos, después de este tiempo la solución se filtró y se colocó en tubos de ensayo, estos tubos se envolvieron con papel aluminio y se refrigeraron 12 horas aproximadamente.

Después tomamos 1 mL del extracto y lo ponemos en un tubo de cultivo para espectrofotómetro, se le agregaron 6 mL de HCl-Terbutanol y 0.2 mL de reactivo férrico, los tubos con esta solución se pusieron a baño maría a 100°C durante 1 hora, dejamos enfriar a temperatura ambiente y se procedió a hacer las lecturas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 460 nanómetros.

3.7 Determinación de actividad antioxidante

3.7.1 Acondicionamiento de la muestra para determinar actividad antioxidante mediante DPPH y ABTS

Para la obtención del extracto pesamos 10 gramos de la muestra y lo agregamos a un vaso precipitado con 100 mL de Metanol, lo colocamos sobre una parrilla agitadora digital marca DLAB durante 30 minutos, la solución se coloca en tubos cónicos para centrifugadora THERMO FISHER SCIENTIFIC HERAEUS a una velocidad a 3000 revoluciones por minuto por 20 minutos a una temperatura de 25°C, todo este proceso se llevó a cabo en ausencia de luz, solo el sobrenadante fue utilizado para las determinaciones de actividad antioxidante (Ruelas-Chacón, 2023).

3.7.2 DPPH

Para esta técnica se utilizaron 0.05 mL del extracto de la muestra y 1.45 mL de la solución de DPPH, estas muestras se miden a una longitud de onda de 517 nanómetros, se realizó una segunda lectura a los 30 minutos, los resultados se sustituyeron en la siguiente fórmula para esta técnica (Ruelas-Chacón, 2023).

$$\%Inhibición = \frac{(absorbancia\ muestra)}{(absorbancia\ solución\ control\ radical\ DPPH)} \times 100$$

3.7.3 ABTS

Las mediciones por esta técnica se realizaron a una longitud de onda de 734 nm en un espectrofotómetro, para las muestras se necesitaron 0.2 mL de extracto de la muestra, 0.8 mL de solución ABTS y 2 mL de agua destilada. Después los resultados fueron interpretados en una curva patrón ya preestablecida, con la ayuda de la fórmula de porcentaje de inhibición sustituimos los resultados (Ruelas-Chacón, 2023).

$$Inhibición\ (\%)_{ABT} = \frac{(absorbancia\ solución\ control\ radical\ (ABTS: Ao) - absorbancia\ muestra\ (Af))}{absorbancia\ solución\ control\ radical\ (ABTS: Ao)} \times 100$$

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se evaluaron los parámetros bromatológicos, físicos, componentes funcionales y sensoriales de los tres tratamientos del pan desarrollado.

Se utilizaron paquetes estadísticos Info Stat y Minitab, para los análisis bromatológicos, físicos y funcionales, las determinaciones se realizaron por triplicado y se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y al encontrar diferencia significativa se realizó la prueba de medias de Fisher con un $p \leq 0.05$.

Los análisis sensoriales realizaron resultados del nivel de agrado del consumidor y se evaluaron estadísticamente mediante la prueba de Kruskal-Wallis con un $p \leq 0.05$. Los atributos evaluados fueron: aceptación global, olor, color, sabor y apariencia global.

Para el análisis bromatológico se evaluó la humedad, la materia seca, el porcentaje de cenizas, el porcentaje de materia orgánica, el porcentaje de proteína cruda, el porcentaje de grasa, el porcentaje de fibra cruda, el porcentaje de extracto libre de nitrógeno y mediante una fórmula se calculó el porcentaje de carbohidratos, todas estas determinaciones se realizaron siguiendo las técnicas de la AOAC.

Los análisis físicos incluyeron la determinación de actividad de agua (A_w), el color (L , a^* y b^*) y la firmeza.

La actividad antioxidante se analizó por los métodos de ABTS y DPPH. Para componentes bioactivos se analizó el contenido de flavonoides.

4.1 Resultados de la elaboración de la barra de pan

Se obtuvieron 3 barras de pan de 27 cm x 20 cm aproximadamente, con un grosor de 7 cm. Las barras T1 se diferenció de color del T2 y T3, ya que la barra del T1 era la única que no contenía harina de huitlacoche, tanto el T2 y T3 contenían un 50% y 25% de harina de huitlacoche. En las siguientes figuras se presentan los tres tratamientos después del horneado (figura 15, 16 y 17).



Figura 14. T1 = 100% HT



Figura 15. T2 = 50% HH



Figura 16. T3 = 25% HH

Las formulaciones con el código de identificación se presentan en el cuadro siguiente:

Cuadro 5. Identificación de formulaciones con porcentaje de harina de huitlacoche (*Ustilago maydis*).

Codigo de Formulación	Formulación
T1	100% Harina de Trigo (HT)
T2	50% Harina de Huitlacoche (HH)
T3	25% Harina de Huitlacoche (HH)

4.2 Evaluación del análisis sensorial

4.2.1 Apariencia Global

La apariencia global es la percepción inicial que determino el panel sensorial sobre los tres tratamientos, el análisis estadístico nos muestra (Fig. 18) que existe diferencia significativa entre los tratamientos T2 y T3 con el T1. De acuerdo con las calificaciones promedio otorgadas por los panelistas, los tratamientos con harina de huitlacoche son estadísticamente iguales. El T1-100%HT tiene una diferencia significativa sobre T2-

50%HH y T3-25%HH ya que difiere totalmente de las dos muestras restantes, el panel cree que T2 y T3 aparentemente casi son similares ya que la diferencia es mínima.

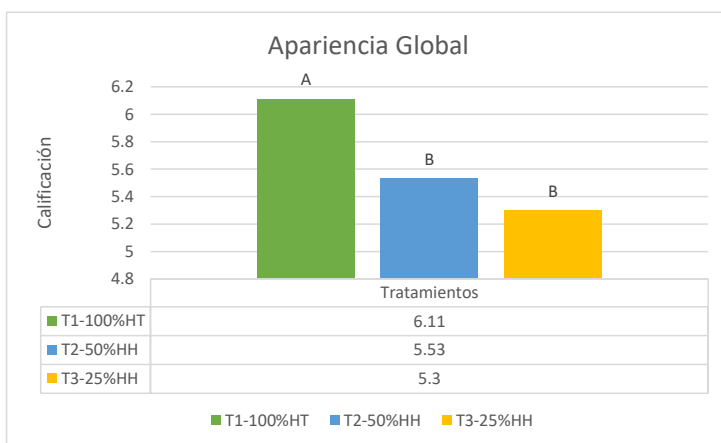


Figura 17. Gráfica de medias obtenidas a una $p>0.05$ de la Apariencia global donde T1 (100% Harina de Trigo), T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de Huitlacoche).

4.2.2 Color

Para esta característica el estadístico nos muestra T1 presenta una diferencia significativa sobre T2 y T3 con una calificación de 6.13 (Fig. 19), ya que los panelistas están más acostumbrados a consumir un pan blanco como el T1.

El T2 y T3 corresponden a un color propio del Huitlacoche. A diferencia del artículo donde trabajaron con trigo sarraceno para evaluar el aspecto de color determinaron que a medida que aumentaba el porcentaje de la harina de trigo sarraceno la calificación iba descendiendo debido al color oscuro que proporciona este trigo (Mohajan, 2019).

Los panelistas relacionan al color oscuro intenso con un sabor a “chocolate”, creen que el color y la apariencia es uno de los aspectos más importantes para el consumidor.

En un estudio realizado para determinar la calidad sensorial en cuanto al color de un pan elaborado a partir de harina de trigo y frijol africano se manejaron diferentes tratamientos, del cual resalto un tratamiento con un porcentaje alto en harina de frijol

africano, y se determinó que fue el tratamiento que obtuvo la menor calificación para el aspecto del color. El panel determinó que el color no era tan apetitoso al verlo a simple vista (Nwosu, 2020).

El color es un aspecto fundamental para la distribución y aceptación del comensal (Mohajan, 2019).

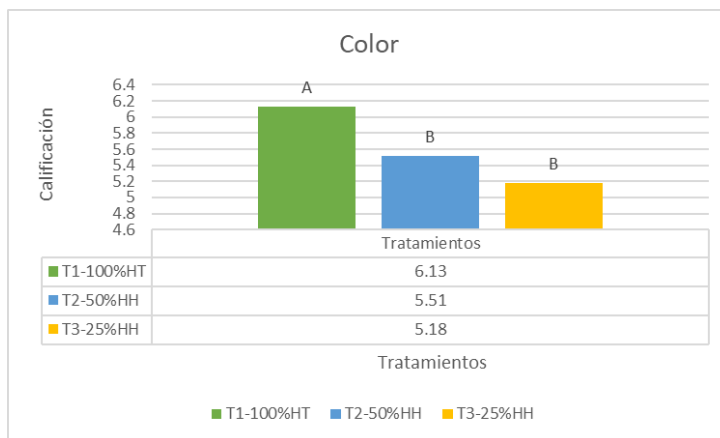


Figura 18. Gráfica de medias obtenidas a una $p > 0.05$ del Color donde T1 (100% Harina de Trigo), T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de Huitlacoche).

4.2.3 Olor

El estudio de medias representado (Fig. 20) nos muestra que el T1 obtuvo una calificación alta sobre T2 y T3 con una calificación de 6.37, y la formulación T2-50%HH obtuvo la menor calificación de las tres muestras, en este caso existía una concentración significativa del 50% de harina de Huitlacoche, los panelistas no están familiarizados con el olor propio del Huitlacoche.

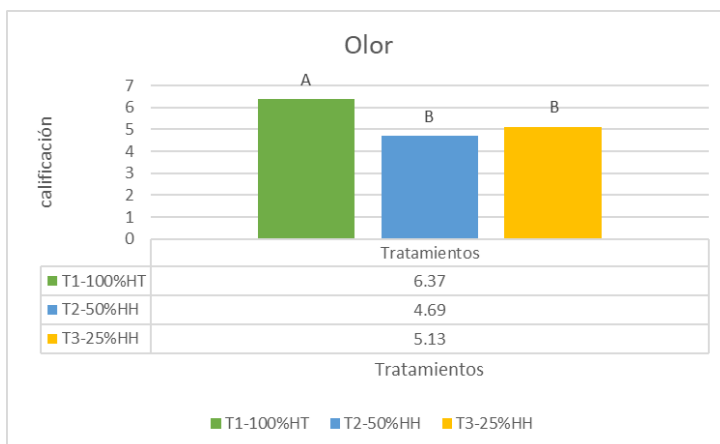


Figura 19. Gráfica de medias obtenidas a una $p > 0.05$ del Olor donde T1 (100% Harina de Trigo), T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de Huitlacoche).

4.2.4 Sabor

En este caso el atributo del sabor del T2- 50%HH tuvo una diferencia significativa en comparación del T1 y T3, pero de manera negativa ya que los panelistas determinaron que el sabor del T2 les parecía concentrado y tiene una correlación con la fórmula del 50% de harina de huitlacoche, ya que es la formulación que contiene más *Ustilago maydis* (Fig. 21).

De acuerdo con el artículo Mangui (2023) habla de un sabor pronunciado al aumento de harina de cocoyambo. El cocoyambo es una raíz comestible, el artículo menciona que a mayor concentración de material vegetal aumenta el sabor característico del propio material y se hará presente en el producto comestible.

En el artículo Nasir (2020) elaboraron un pan con la adición de harina de amaranto y refiere que el sabor más pronunciado se dio en su tratamiento con el mayor porcentaje de harina de amaranto y por ello obtuvo una calificación de rechazo, ya que a los panelistas tienen nulo reconocimiento del sabor.

Al igual que en el presente trabajo de investigación sobre la barra de pan a base de huitlacoche los panelistas dieron una calificación menor al tratamiento con porcentaje mayor.

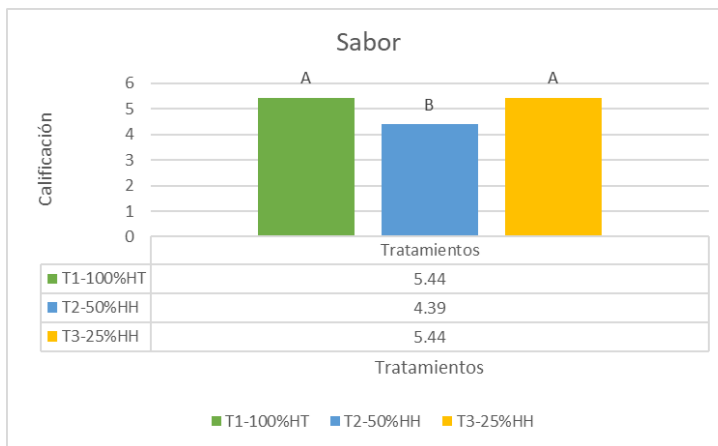


Figura 20. Gráfica de medias obtenidas a una $p > 0.05$ del Sabor donde T1 (100% Harina de Trigo), T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de Huitlacoche).

4.2.5 Textura

En el siguiente grafico del atributo de textura (Fig. 22.), nos muestra resultados similares de los tres diferentes tratamientos. En este caso, la mayor calificación la obtuvo el T3 y la menor T2 a comparación del T1, los panelistas no encontraron diferencias significativas entre los tres tratamientos.

La textura del pan está relacionada a los diferentes ingredientes con los cuales se elabora este producto, además de las cantidades que se le agregue de los diferentes materiales vegetales, estos mismos son los responsables de las características específicas del pan, la adición de diferentes harinas en la elaboración del pan puede determinar la calidad de nuestra proteína (López, 2013).

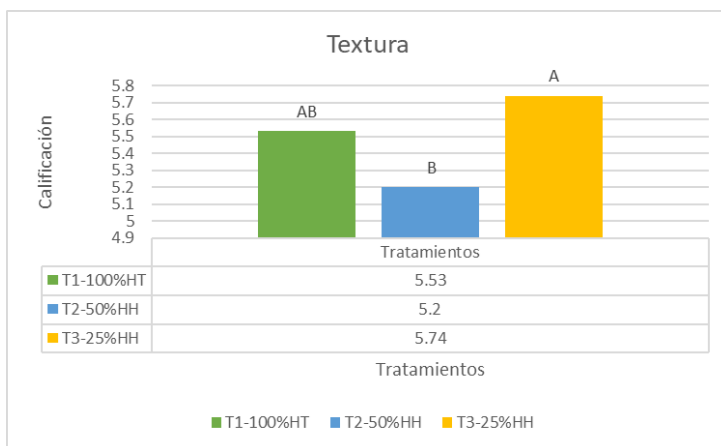


Figura 21. Gráfica de medias obtenidas a una $p>0.05$ de la textura donde T1 (100% Harina de Trigo), T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de Huitlacoche).

4.2.6 Aceptación Global

En cuanto a la aceptación global (Fig. 23), se determina el grado de aceptabilidad del panel sobre el producto, el panel sensorial refirió que los tratamiento con mayor calificación en cuanto a todos los atributos descriptivos fue el T1 100%HT y el T3 25%HH, esto quiere decir que hay poca diferencia significativa entre estos dos tratamientos. Un porcentaje menor en la adición de harina de huitlacoche en la elaboración de una barra de pan sería aceptado por el consumidor.

Zumarán, et, al (2019) refiere que la aceptabilidad del producto aplica sobre la adición de material vegetal añadido a la elaboración de pan y las propiedades naturales del aditivo.

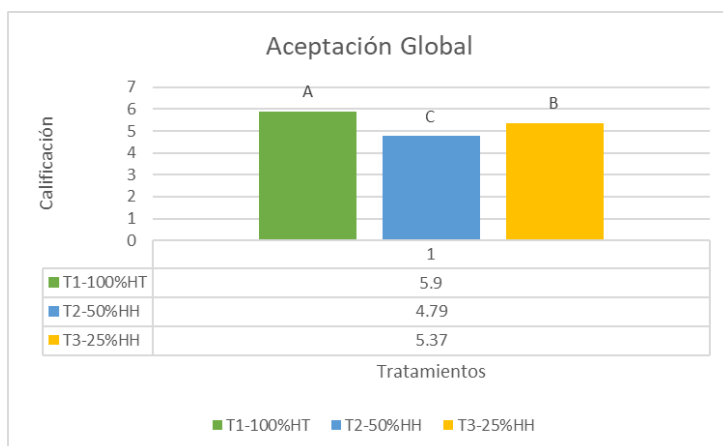


Figura 22. Gráfica de medias obtenidas a una $p>0.05$ de la textura donde T1 (100% Harina de Trigo), T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de Huitlacoche).

4.3 Determinaciones del Análisis Bromatológico

4.3.1 Determinación de Humedad

El siguiente gráfico nos muestra el resultado del porcentaje de humedad obtenidos del estudio de Fisher. En la gráfica podemos observar que el T1 100%HT tiene un porcentaje mayor en comparación a los tratamientos restantes con un 57% por lo consiguiente su capacidad de humedad es del 43%.

Los porcentajes de humedad de T2 50%HH y T3 25%HH aumentaron, esto quiere decir que la adición de harina de huitlacoche implico en la retención de humedad.

Este factor ayudo a la presentación visual del producto, pero por otro lado es un punto a tratarse en futuros estudios sobre este proyecto ya que un alto índice de humedad aumenta el riesgo de proliferación microbiana en un lapso de tiempo corto.

Según la NOM-F-159-S-1979 para pan blanco de caja en los casos de los tratamientos de estudio no concuerdan ya que nos habla de un mínimo de 30% de humedad y un máximo de 38% (SEGOB, 2024).

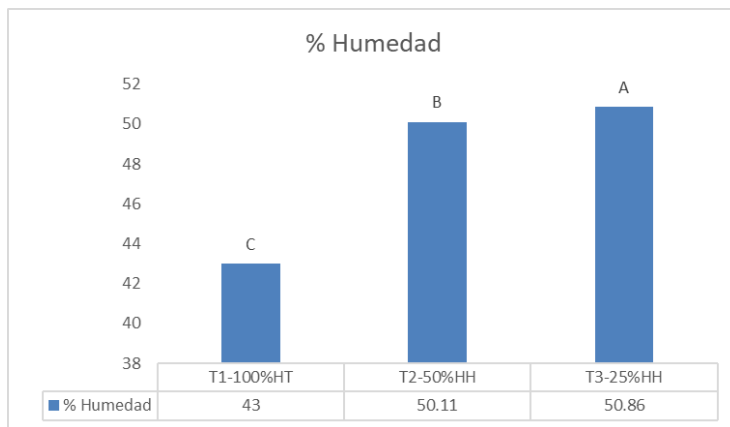


Figura 23. Gráfica de medias de los porcentajes obtenidos para humedad, donde T1 (100% Harina de Trigo), T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de Huitlacoche).

4.5.2 Determinación de cenizas

En la figura (Fig. 25) se muestran los resultados obtenidos sobre la determinación de cenizas, la formulación del T2 50%HH obtuvo el mayor porcentaje de cenizas con 1.72% seguido de la formulación T1 100%HT con 1.22% y por último el T3 25%HH obtuvo el menor porcentaje con %1.09. Comparando estos resultados con la NOM-F-159-S-1979 sobre las cenizas reportadas en pan blanco de caja indica que los porcentajes permitidos de cenizas en este tipo de pan es de %1.8 como mínimo y %2.5 como máximo (SEGOB, 2024).

Los tratamientos se encuentran con niveles bajos de minerales y nos indican resultados favorables y dentro del rango de aceptabilidad. Porcentajes altos de cenizas indicarían adulteraciones del producto.

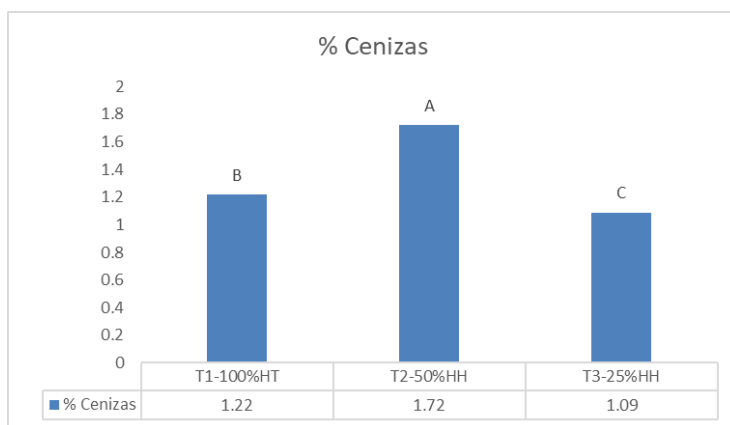


Figura 24. Gráfica de medias de los porcentajes obtenidos para Cenizas, donde T1 (100% Harina de Trigo), T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de Huitlacoche).

4.3.3 Determinación de proteína

El análisis bromatológico para obtener el porcentaje de proteína cruda (Fig. 26) arrojó porcentajes bajos para los 3 tratamientos. Para nuestro T1 100%HT fue de 6.51%, porcentaje bajo según la NOM-F-159-S-1979 y un rango del 2 y 2.5% tenemos los tratamientos T2 50%HH y T3 25%HH.

La determinación de porcentajes bajos de proteína se debe a varias cuestiones entre ellas la variedad de maíz de donde proviene el huitlacoche.

Mendoza (2020) menciona que el huitlacoche tiene un gran aporte proteico y este depende en gran parte de la variedad del maíz ya que, desde la inoculación las proteínas se segregan de diferentes formas para distribuirse dentro del grano, pero los niveles proteicos nunca serán iguales.

Otra razón de aportes bajos de proteína podría ser por el tratamiento de deshidratación al cual se sometió el huitlacoche.

Las proteínas sufren desnaturalización cuando son sometidas a temperaturas que oscilan entre los 50°C y 60°C, pierden por completo su actividad biológica (Murcia, 2023).

Según un estudio que se realizó para la elaboración de chips de tortilla a base de huitlacoche menciona que tal adición no muestra índices a la alta para proteína y las diferencias únicamente se dieron por la adición de otras materias primas propias de las chips de tortilla (Amador et al., 2020).

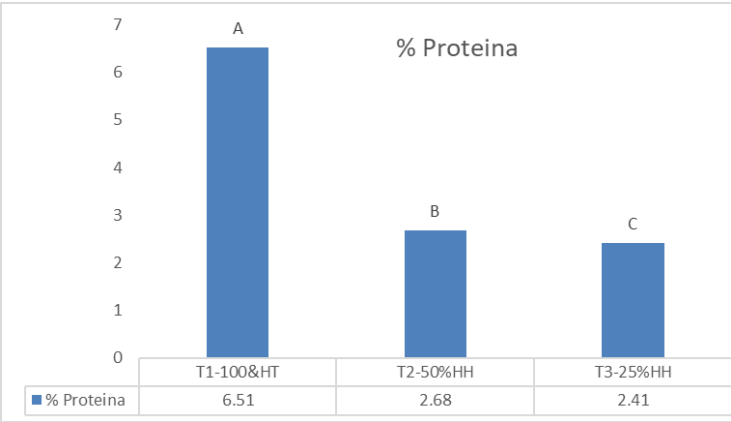


Figura 25. Gráfica de medias de los porcentajes obtenidos para Proteína cruda, donde T1 (100% Harina de Trigo), T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de Huitlacoche).

4.3.4 Determinación de grasa

El estudio de Fisher para el contenido de grasa presento una diferencia significativa para el T2 50%HH a comparación con el T1 y T3, sin contar que el T1 tiene nulo contenido de harina de huitlacoche y el T3 solo un 25%. Nos indica que a mayor contenido de huitlacoche en el producto hay una baja significativa de grasa, dato relevante para la producción de alimentos funcionales a base de *Ustilago maydis*.

Amador *et al.*, 2020 establece que la grasa se redujo a manera de que aumentaba la cantidad de harina de Huitlacoche en los chips de tortilla de maíz azul y esto concuerda con el estudio realizado para pan con harina de *Ustilago maydis*.

En otro estudio realizado en un mole a base de harina de huitlacoche arroja porcentajes bajos en grasa, así podemos determinar que hay una baja de porcentaje de grasa con la presencia de *Ustilago maydis* (Alonso, 2019).

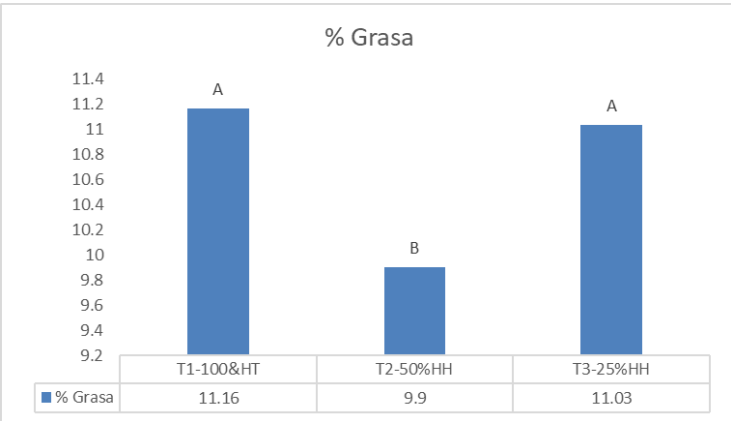


Figura 26. Gráfica de medias de los porcentajes obtenidos para Grasa, donde T1 (100% Harina de Trigo), T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de Huitlacoche).

4.3.5 Determinación de Fibra

La fibra presente en un producto es un indicativo positivo para la salud específicamente para el tracto digestivo y efectos anticancerígenos (Pycia, 2020). Una ingesta diaria de fibra ayuda a combatir la obesidad, enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2 a demás que ayuda con el estreñimiento (Garrido, 2019).

En el gráfico (Fig. 28) de acuerdo con los resultados del ANOVA existe una diferencia significativa entre tratamientos, los T2 50% HT y T3 25%HH destacaron por su alto porcentaje de Fibra cruda sobre el T1 100%HT que es nuestra muestra control.

El T2 mostro el porcentaje mayor con un 4.28% de fibra cruda, sobrepasa lo establecido en la NOM-F-159-S-1979 para pan blanco de caja (SEGOB, 2024), es decir que la adición de harina de huitlacoche aumenta los niveles de fibra significativamente.

En un estudio de chips de tortilla adicionado con *Ustilago maydis* (Amador *et al.*, 2020) describe que el porcentaje de fibra está relacionado con la adición de harina de Huitlacoche, sus tratamientos con dicha harina presentan los porcentajes más altos a comparación de las demás formulaciones.

La presencia de altos niveles de fibra puede obstruir la expansión de células gaseosas es decir evita que esponje durante la fermentación y como resultado obtenemos un pan compactado (Solangi, 2017).

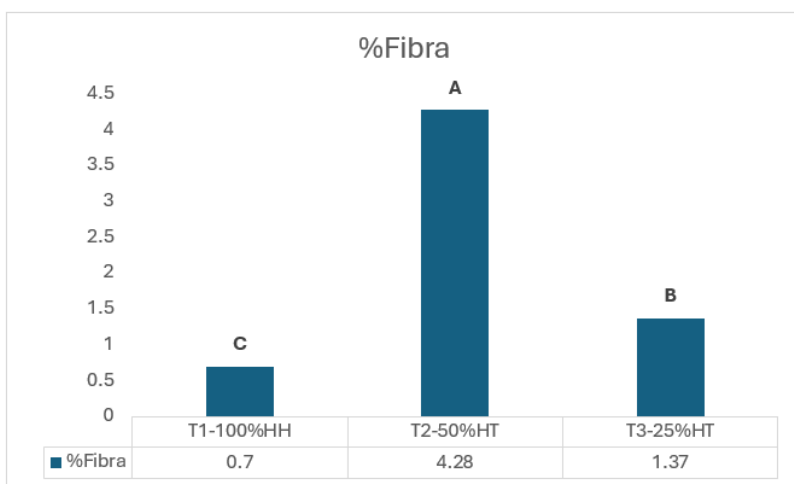


Figura 27. Gráfica de medias de los porcentajes obtenidos para fibra cruda, donde T1 (100% Harina de Trigo), T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de Huitlacoche).

4.3.6 Determinación de Carbohidratos

En la siguiente figura (Fig. 29), podemos observar el porcentaje de azúcares contenidos en cada uno de los tratamientos, estos dependen de la formulación con la que se trabajó y el contenido de carbohidratos de cada materia prima utilizada.

El ANOVA nos muestra que nuestro T1 100%HT obtuvo el porcentaje mayor con un 44.22% total de carbohidratos, en cambio el T2 y T3 con un 50% y 25% harina de

huitlacoche respectivamente mostraron niveles bajos de carbohidratos a pesar de que nuestra formulación se le agrego azúcar.

Podemos adjudicar al huitlacoche la reducción notable de carbohidratos, es de decir a mayor contenido de huitlacoche menor contenido de carbohidratos presentes; característica ideal para la producción de alimentos funcionales.

Diferentes estudios analizan panes elaborados con harinas vegetales, tal es el caso de un estudio para determinar la cantidad de carbohidratos en un pan tipo “coyota”, pan típico de México a base de harinas de frijol y nopal, menciona que el tratamiento con mayor gramaje de estas harinas presenta menores contenidos de carbohidratos (Santos et al., 2021).

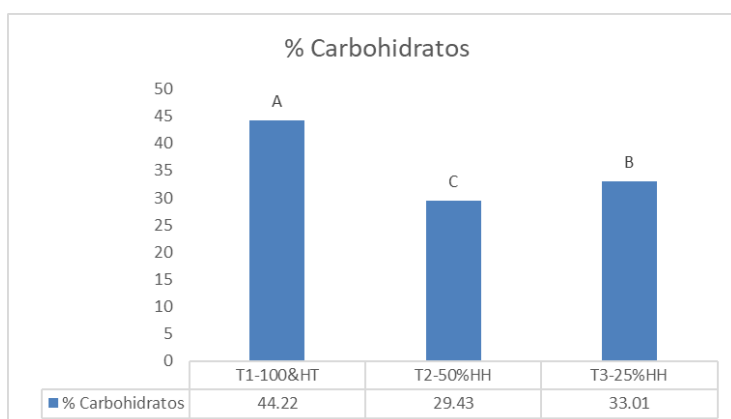


Figura 28. Gráfica de medias de los porcentajes obtenidos para carbohidratos, donde T1 (100% Harina de Trigo), T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de Huitlacoche).

4.4 Análisis Físico

4.4.1 Color

Para el análisis de color se utilizó un colorímetro que mide el espacio CIELAB (CIEL* a* b*) a manera de plano cartesiano de 3 ejes donde el eje L* indica la Luminosidad, a* estos ejes van de las tonalidades rojas positivas a verdes negativas y el eje b* sus valores positivos son amarillos y sus valores negativos son azules.

El espacio CIELAB es la escala de colores que más se utilizan en la industria de los alimentos, ya que de manera simple es complicado indicar un color exacto por las diferentes percepciones de los diferentes individuos que puedan tener, y de manera precisa se propone indicar los colores de manera numérica en un plano cartesiano. Es un método utilizado para identificar diferencias en el producto y poner límites de color (Oliag, 2020).

El estudio ANOVA nos dice que tenemos una diferencia significativa entre nuestro tratamiento control T1 100%HT y los tratamientos con harina de huitlacoche T2 50%HH y 25%HH. Estos resultados son el reflejo del color característico del huitlacoche.

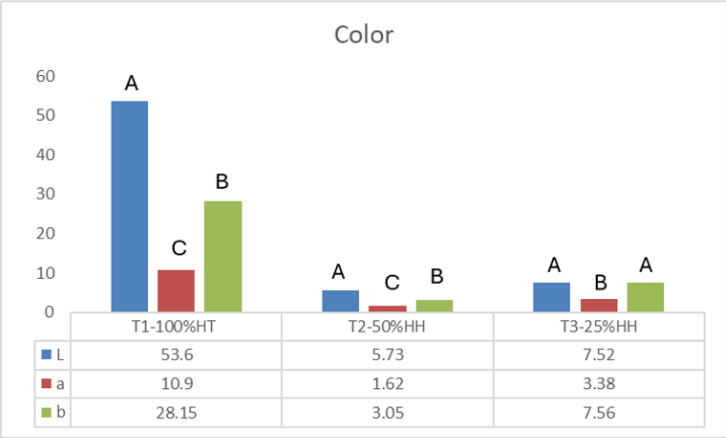


Figura 29. Gráfica de medias obtenidas para color, donde T1 (100% Harina de Trigo), T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de Huitlacoche).

En la fig. 31 podemos observar donde se ubican nuestras muestras en la escala del círculo de CIELAB, que es un análisis de color. Los tratamientos se encuentran en coordenadas bajas y con poca luminosidad.

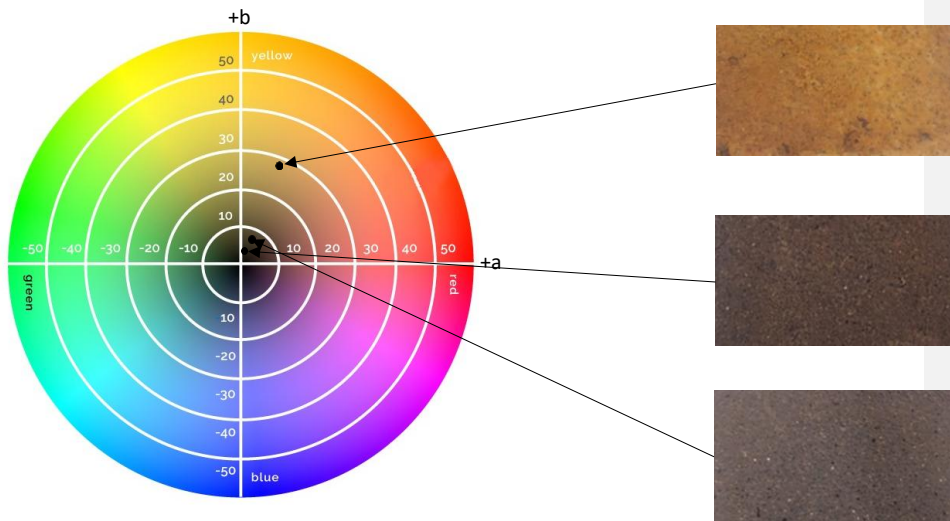


Figura 30. Diagrama del espacio CIE L* a* b* (Oliag, 2020)

En el siguiente gráfico (Fig. 32) nos muestra un rango de luminosidad, que concuerdan con el color de nuestras muestras.

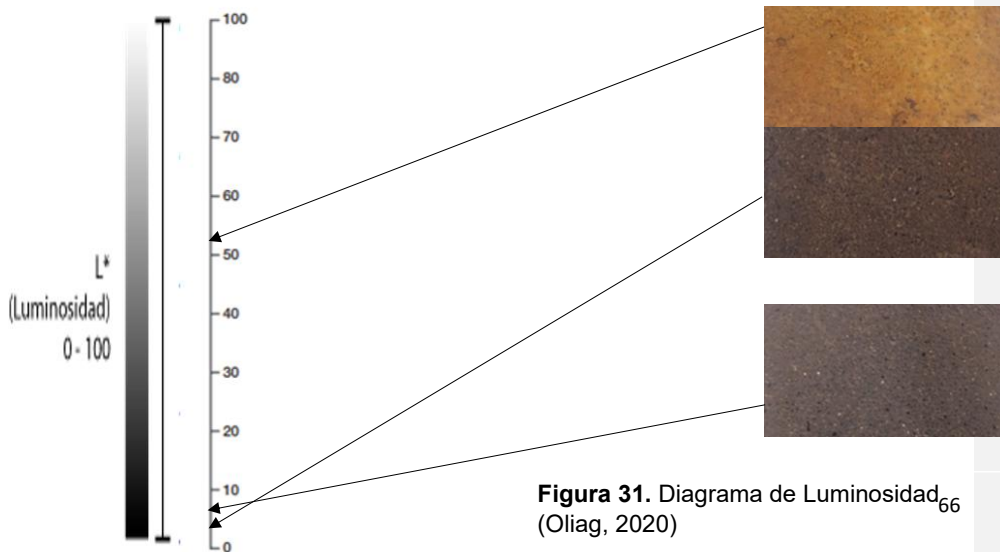


Figura 31. Diagrama de Luminosidad₆₆ (Oliag, 2020)

4.4.2 Actividad de Agua (Aw)

Mediante el estudio de medias (Fisher) con un ($P>0.05$) se determinó que no existían diferencias significativas entre los tres tratamientos, ya que los resultados fueron muy similares, T1 100%HT obtuvo un 0.76% de actividad de agua en cuanto a T2 50%HH y T3 25%HH ambos dieron un resultado de 0.74%, existe una similitud entre los tres tratamientos.

Eurofins, (2023) comenta que los porcentajes de Aw se encuentran entre su clasificación con un 0.60% y un 0.85%, porcentajes aceptables para su clasificación. Los tratamientos de este estudio se encuentran dentro de un parámetro donde los microorganismos ya no pueden proliferarse, a menos de que se contaminen de manera indirecta con microorganismos que son capaces de crecer con una baja Aw. Serrate, 2023 nos dice que según nuestros resultados los microorganismos que se podrían presentar son las bacterias halófilas y los hongos xerófilos con un rango de Aw entre un 0.65% a un 0.80%. El pan es un alimento con humedad intermedia con una actividad de agua de entre 0.65% y un 0.86% y a medida que aumente más esta actividad disminuye su vida anaquel (España, 2022). Comparando los resultados de la investigación que se realizó con nuestros resultados determinamos que nos encontramos dentro los parámetros aceptados para pan.

Comentado [XR3]: El anova no es el estudio de medias son dos cosas diferentes en todo caso debes mencionar cual estudio de medias realizaste Fisher o Tukey etc.

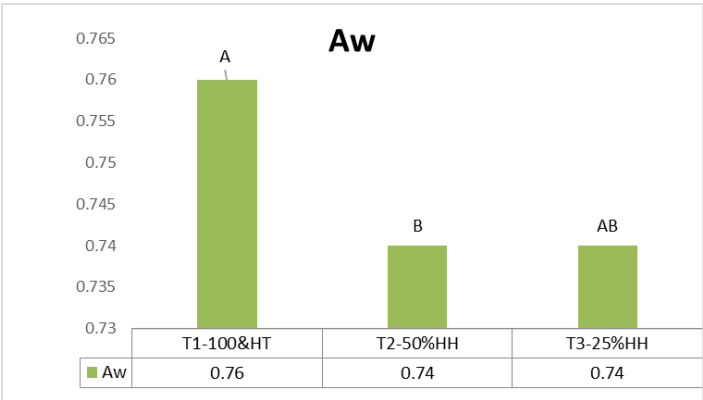


Figura 32. Gráfica de medias de las medias obtenidas para (Aw), donde T1 (100% Harina de Trigo), T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de Huitlacoche).

4.4.3 Firmeza

En la figura 34. observamos los resultados para el análisis de comparación de firmeza de las muestra y se verifica que no existe una diferencia significativa entre tratamientos, podemos justificar que el tratamiento T2 50%HH con mayor contenido de harina de huitlacoche solo empleó una fuerza de 5.73 N, esto quiere decir que nuestra muestra tenía cierta suavidad, es una característica favorable para la elaboración del producto. En el T1 100%HH empleo un 10.3 N de fuerza y el T3 25%HH un 7.53 N. A mayor cantidad de harina de *Ustilago maydis* más suave será la formula.

En un estudio referente a un pan elaborado con harina de soja y garbanzo se vio afectado con el aumento porcentual en la formulación de estas harinas, ya que la textura del pan no fue buena a lo esperado cuando se busca la esponjosidad de un pan, es decir no todas las harinas vegetales pueden aportar suavidad a un producto como el pan (Serventia, 2018).

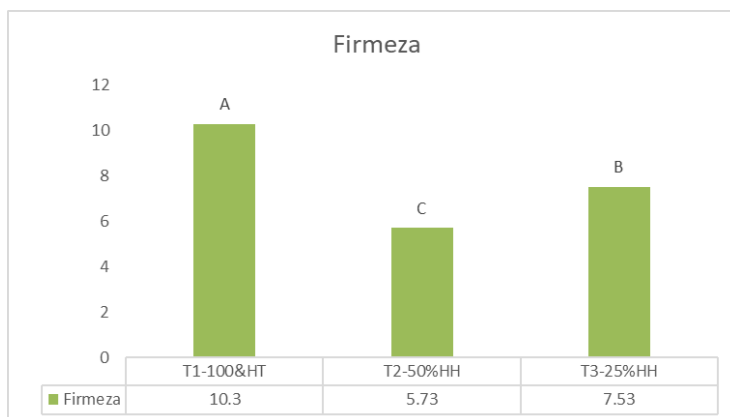


Figura 33. Gráfica de medias de las medias obtenidas para firmeza, donde T1 (100% Harina de Trigo), T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de huitlacoche).

4.5 Análisis de Componentes Bioactivos

4.5.1 Determinación de Flavonoides

El estudio de Fisher con un ($p>0.05$) para la determinación de flavonoides o taninos condensados, demostró que hubo una diferencia significativa entre tratamientos, se comprobó que ha mayor presencia de *Ustilago maydis* más cantidad de flavonoides existe en el producto.

El tratamiento T2 50%HH demostró tener el mayor contenido de flavonoides con 727.92 mg EC/100g, seguido del T3 25%HH con 477.08 mg EC/100g, a comparación del T1 que no contiene harina de huitlacoche como se muestra en la (fig. 35).

Cacak-Pietrzak, (2021) menciona que los flavonoides son fitonutrientes que podemos encontrar en material vegetal, son compuestos benéficos para la salud, estos compuestos los podemos encontrar en tallos, hojas y flores.

Un estudio sobre la elaboración de un pan a base de raíces secas de diente de león demostró que altos índices de harina de esta raíz presenta porcentajes altos de flavonoides (López et al., 2019).

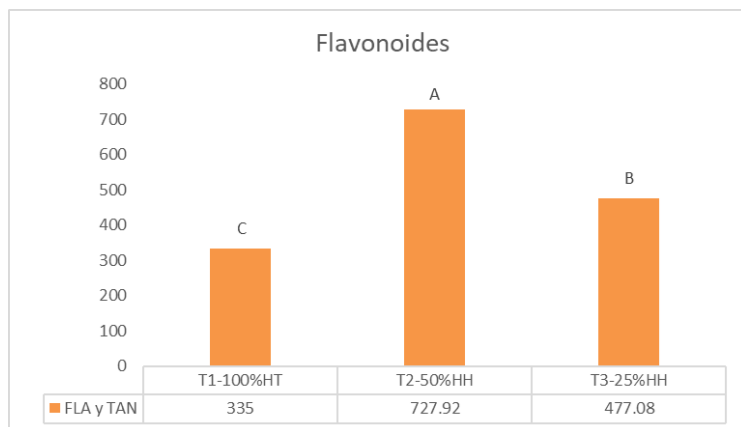


Figura 34. Gráfica de medias de las medias obtenidas para flavonoides donde T1 (100% Harina de Trigo), T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de huitlacoche).

4.6 Determinación de Actividad Antioxidante

4.6.1 DPPH

Se realizó el estudio de Fisher con un $(p>0.05)$ para determinar la capacidad antioxidante, donde al inicio de la primera lectura pudimos observar que no existen diferencias significantes entre los tratamientos T2 50%HH y el T3 25%HH. Las lecturas se realizaron en $\mu\text{M/g}$ (micro moles) como se muestra en la figura (fig. 36).

Con el método de DPPH se determina la capacidad antioxidante del pan elaborado con huitlacoche, podemos afirmar que a mayor concentración de harina de *Ustilago maydis* aumenta la capacidad antioxidante del producto.

En un estudio realizado para determinar la capacidad antioxidante del huitlacoche de extractos etanólicos en crudo y cocidos López et al., (2020), afirman que estos extractos presentaron más actividad antioxidante en huitlacoche cocido a comparación del huitlacoche crudo.

A diferencia de otros hongos como el *Pleurotus ostreatus* el huitlacoche tiene más resistencia a procesos térmicos ya que se demostró que la cocción beneficio al aumento de la capacidad antioxidante.

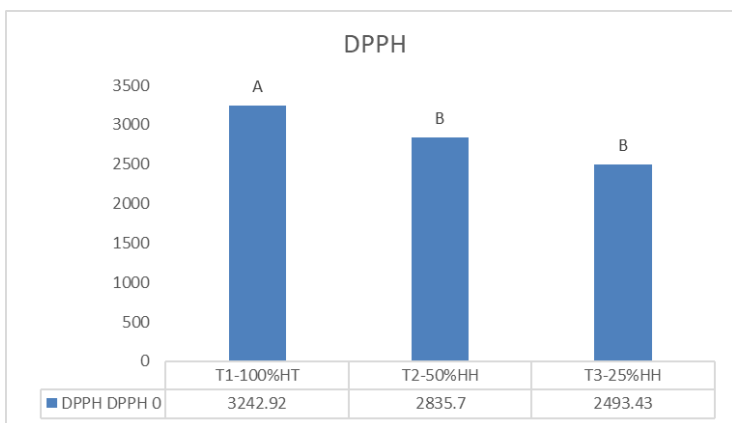


Figura 35. Gráfica de medias de las medias obtenidas para actividad antioxidante mediante el método de DPPH donde T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de huitlacoche)

4.6.2 ABTS

Para el método de ABTS, la actividad antioxidante marco una diferencia significativa entre el T2 50 %HH y T3 25% HH de 0.06 mg ET/g, los resultados los podemos observar en la figura (fig. 37).

En el artículo de López et al., (2020) nos describen las diferentes categorías que se manejan según el tiempo de reacción. Según este artículo *Ustilago maydis* si puede ser considerado un alimento funcional por características benéficas para la salud comprobadas entre ellas la capacidad antioxidante (Beas, 2020).

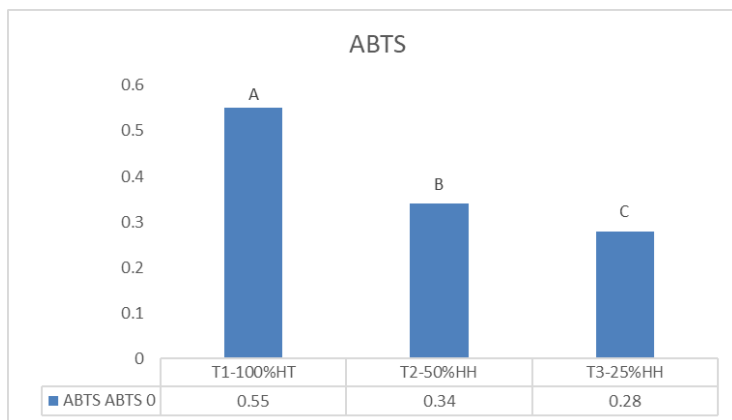


Figura 36. Gráfica de medias de las medias obtenidas para actividad antioxidante mediante el método de ABTS donde T2 (50% Harina de Huitlacoche) y T3 (25% Harina de huitlacoche).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

Se desarrollaron dos formulaciones de pan de barra con la adición de harina de huitlacoche, las cuales se hornearon para obtener el pan con características notables de color y sabor, diferentes a la formulación testigo o control que se elaboró con harina de trigo.

Respecto al análisis sensorial para las formulaciones con harina de huitlacoche podemos determinar que la formulación de mayor aceptabilidad por los consumidores fue la formulación T3 (25%HH), ya que cuenta con características aceptables por los consumidores, considerando los atributos de olor, sabor, textura, y aceptabilidad global.

Las características bromatológicas destacables que mostraron diferencia significativa entre el tratamiento control con los dos tratamientos con harina de huitlacoche se puede mencionar el contenido de grasa, carbohidratos, y niveles altos de fibra cruda.

En cuanto al análisis físico la característica de color fue la más evidente de las diferencias significativas, ya que las formulaciones que incluyeron harina de huitlacoche obtuvieron un color oscuro. Los resultados de firmeza y actividad de agua también mostraron diferencias significativas en comparación con el tratamiento control, siendo los T2 y T3 más suaves por la adición de la harina de huitlacoche. Considerando los valores de actividad de agua (*Aw*) en los tres tratamientos los valores fueron adecuados y óptimos una mayor vida de anaquel.

Los tratamientos 2 y 3 mostraron niveles altos de flavonoides, lo cual es ideal para que le producto pueda ser considerado como alimento funcional, ya que lo que se observó fue que a mayor contenido adicionado con *Ustilago maydis* mayor contenido de flavonoides.

La actividad antioxidante que presentaron los T2 y T3 fue mayor que el tratamiento control, lo cual se le atribuye al contenido de harina de huitlacoche en las formulaciones. Por lo que se puede considerar como un alimento funcional, y a mayor cantidad de *Ustilago maydis* mayor actividad antioxidante.

Comentado [XR4]: OJO cambie la redacción de las conclusiones.

CAPÍTULO VI

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso, M. F. (2019). Desarrollo de un mole gourmet en pasta a base de harina de Huitlacoche y evaluación de sus propiedades de calidad. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, 91-118.
- Antonio Alberto Galdino, R. C. (Septiembre de 2022). Evaluación de los componentes nutrimentales, funcionales y propiedades sensoriales de galletas elaboradas con harina de dos variedades de maíz germinado. Saltillo, Coahuila, México.
- Armendáriz, F. (2021). Hongos Comestibles y Tóxicos de México. *Hongos Comestibles y Tóxicos de México*. México. Obtenido de Hongos Comestibles y Tóxicos de México:
<https://hongoscomestiblesytoxicos.ib.unam.mx/imagenes/infografias/ustilago-maydis.png>
- Azúa, R. V. (2011). Cujtlacoche El Cuitlacoche. *Cujtlacoche El Cuitlacoche*. Instituto de Investigaciones Antropológicas, Cd, Mex.
- Beas, R. (2020). Potencial nutracéutico de componentes bioactivos presentes en huitlacoche de la zona centro de México. *Nutraceutic potential of bioactive components present in huitlacoche from the central zone of Mexico*. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, Ciudad de México, México.
- Borsuk, Y. (2021). Impact of Ferment Processing Parameters on the Quality of White Pan Bread. *Impact of Ferment Processing Parameters on the Quality of White Pan Bread*. Technical Division of Cereals Canada, Canada.
- Boz, H. (2020). Mejora de la calidad del pan integral mediante el uso de diversos materiales de origen vegetal. *Mejora de la calidad del pan integral mediante el uso de diversos materiales de origen vegetal*. Departamento de Ingeniería de

Alimentos, Facultad de Agricultura, Universidad Atatürk, Erzurum, Turquía, Turquía.

- Bravo, G. V. (2010). Alternativas de aprovechamiento de harinas tradicionales para la elbaoración de pan artesanal. *Alternativas de aprovechamiento de harinas tradicionales para la elbaoración de pan artesanal*. Escuela Superior Politecnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.
- Cacak-Pietrzak, G. (2021). Efecto de la adición de raíces secas de diente de león (*Taraxacum officinale* FH Wigg.) sobre las propiedades de la masa y el pan de trigo. *Efecto de la adición de raíces secas de diente de león (Taraxacum officinale FH Wigg.) sobre las propiedades de la masa y el pan de trigo*. División de Tecnología de Frutas, Hortalizas y Cereales, Departamento de Tecnología y Evaluación de Alimentos, Universidad de Ciencias de la Vida de Varsovia, Varsovia.
- Calderón, M. L. (2010). *Caracterización Clásica y Molecular del Huitlacoche*. Colegio de Postgraduados, Texcoco de Mora, Edo. Mex.
- Calderón, M. L. (2010). Caracterización Clásica y Molecular del Huitlacoche (*Ustilago maydis* D.C (Corda)), Hongo de Importancia Social y Económica en la Región Central de México. *Caracterización Clásica y Molecular del Huitlacoche (Ustilago maydis D.C (Corda)), Hongo de Importancia Social y Económica en la Región Central de México*. México.
- Chacón, X. R. (2023). Manual de Prácticas Xochitl Ruelas Chacón. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México.
- Company, B. A. (2019). Huitlacoche Empanadas Oaxaca Taste of Mexico. *Bon Appétit Management Company*.
- Cuauhtémoc, E. (2020). dinámica de la cosecha de huitlacoche. *dinámica de la cosecha de huitlacoche*. Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Edo, Mex.

- Desarrollo, C. d. (23 de Septiembre de 2022). *CONAHCYT*. Obtenido de CONAHCYT: <https://www.ciad.mx/huitlacoche-una-delicia-ignorada/#:~:text=Adem%C3%A1s%20de%20su%20exquisito%20sabor,arterial%20y%20las%20respuestas%20inflamatorias.>
- Du Bois, G. K. (1956). Colorimetric method for determination of sugar and related substances.
- Economía, S. d. (2017). Conoce más sobre la industria panificadora en México. *Conoce más sobre la industria panificadora en México*. Gobierno de México, Cd. Méx.
- Escalante-Pérez, C. (2020). *Dinámica de la cosecha de huitlacoche (Ustilago maydis Cda.)*. Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Edo Mex.
- Escalante-Pérez, C. (2020). Dinámica de la cosecha de huitlacoche (ustilago maydis cda.) en nueve híbridos comerciales de maíz. *dinámica de la cosecha de huitlacoche (Ustilago maydis Cda.) en nueve híbridos comerciales de maíz*. Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Estado de México, México. Recuperado el 17 de Abril de 2024
- España, B. T. (2022). *El pan, el moho y el aire comprimido*. España: LinkedIn.
- Eurofins. (2023). *Eurofins*. Obtenido de Eurofins: <https://convet.net/la-actividad-de-agua-en-los-alimentos/>
- Fabricante, F. (2019). Tentación; La respuesta de México a la trufa. *The New York Times*.
- Garrido, P. M. (2019). Physicochemical and sensory characteristics of pan bread samples available in the Brazilian market. *Physicochemical and sensory characteristics of pan bread samples available in the Brazilian market*. Food Science and Technology, Brasil.
- González, D. J. (2016). Producción natural de huitlacoche [Ustilago maydis (DC) Corda] en el estado de Aguascalientes. *Producción natural de huitlacoche [Ustilago maydis (DC) Corda] en el estado de Aguascalientes*. Aguascalientes.

- Héctor Araya L, M. L. (2003). Alimentos funcionales y saludables. *Revista Chilena de Nutrición* .
- Hernández, N. M. (2011). Perfil sensorial de pan blanco de caja y su comparación entre entre el análisis instrumental y microscopía óptica. *Perfil sensorial de pan blanco de caja y su comparación entre entre el análisis instrumental y microscopía óptica*. a Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL y La División Ciencias de la Vida Universidad de Guanajuato, Zacatecas.
- Hernández-Carnalla, L. (2023). De plaga a alimento nutritivo: elaboración de harina huitlacoche ustilago maydis. *from pest to nutritious food: making*. rd-icuap Benemérita Universidad Autónoma de Puebla Campus Matamoros, HUITLACOCHE FLOUR Ustilago maydis.
- Herrera, J. R. (2008). Ustilago maydis: ascenso de un hongo mexicano de la gastronomía local al mundo científico. *Revista Electrónica Nova Scientia*, 135.
- Hitz, C. (2020). Baking Artisan Bread. *10 expert formulas for baking better bread at home*.
- Javier Aranceta, L. S. (s.f.). Guía de Alimentos funcionales. *Instituto Omega* 3, 7-14.
- José Cruz Salazar Torres, e. a. (2018). El huitlacoche (*Ustilago maydis*) alimento prehispánico mexicano y su producción en ocho maíces criollos de zonas altas. *El huitlacoche ustilago maydis alimento prehispánico mexicano y su producción en ocho maíces criollos de zonas altas*. Departamento de Botánica, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila.
- José Cruz Salazar, T. L. (2021). El Huitlacoche . En T. L. José Cruz Salazar, *El Huitlacoche ALIMENTO PREHISPÁNICO Historia, Aprovechamiento* (págs. 21-84). Estado de México.
- José, B. (2022). Ingredientes bioactivos del huitlacoche (*Ustilago maydis*) potencial materia prima alimentaria. *Ingredientes bioactivos del huitlacoche (Ustilago maydis) potencial materia prima alimentaria*. Tecnológico Nacional de México, Delicias, Chihuahua.

- Karla Yuritzi Amador-Rodríguez, F. M.-B.-C.-D.-R.-V.-L. (2020). Efecto de la adición de pasta de huitlacoche (*Ustilago maydis* DC Corda) sobre las propiedades funcionales, químicas y texturales de chips de tortilla. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4-8.
- Lizzeth Hernández-Carnalla^{1*}, F. O.-T.-R.-F.-D. (s.f.). De plaga a alimento nutritivo: elaboración de harina huitlacoche *Ustilago maydis*. *RD-ICUAP*, 121-125.
- López, A. M. (2019). Híbridos de maíz elotero susceptibles al huitlacoche. *Híbridos de maíz elotero susceptibles al huitlacoche*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Universidad Autónoma Chapingo, Estado de México.
- López, J. M. (2020). Capacidad antioxidante y caracterización fitoquímica de extractos etanólicos de huitlacoche (*Ustilago maydis-Zea mays*) crudo y cocido. *Capacidad antioxidante y caracterización fitoquímica de extractos etanólicos de huitlacoche (Ustilago maydis-Zea mays) crudo y cocido*. Universidad Autónoma de Aguascalientes, Aguascalientes.
- Madina, r. (2022). *Frico pan*. Obtenido de Frico pan: <https://fricopan.es/descubre-mas-sobre-el-pan-de-molde-aleman/#:~:text=El%20pan%20de%20molde%20fue,podr%C3%ADa%20funcionar%20para%20el%20pan>.
- Méndez, A. L. (2019). El cultivo de huitlacoche: alimento nutritivo y sustentable. *El cultivo de huitlacoche: alimento nutritivo y sustentable*. Ciencias Agronómicas Aplicadas y Biotecnología.
- Mendoza, J. R. (2020). *Desarrollo y Evaluación de los parámetros de Calidad de un Totopo Funcional a base Huitlacoche*. Saltillo, Coahuila: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Mesas, J. M. (2002). El pan y su proceso de elaboración. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 2-7.

- Mesas, J. M. (2020). El pan y su proceso de elaboración. *el pan y su proceso de elaboración*. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Área de Tecnología de los Alimentos. Escuela Politécnica, Lugo, España.
- MÉXICO, U. N. (2021). *Hongos Comestibles y Tóxicos de México* . Obtenido de Hongos Comestibles y Tóxicos de México : https://hongoscomestiblesytoxicos.ib.unam.mx/fichas/Ustilago_maydis.html
- MO, Y. (2020). Producción y Evaluación de Pan Elaborado con Yuca de Alta Calidad Mezclas de harina (HQCF) y harina de trigo. *Producción y Evaluación de Pan Elaborado con Yuca de Alta Calidad Mezclas de harina (HQCF) y harina de trigo*. Departamento de Ciencia Señor. Agricultura y Tecnología Michael, Umudike, de los P. Alimentos de Okpara, Universidad de Umuahia, Estado de Abia, Nigeria, Nigeria.
- Mohajan, S. (2019). Pan fortificado con harina de trigo sarraceno. *Pan fortificado con harina de trigo sarraceno*. Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Shahjalal, Bangladesh.
- Mohamed, A. K. (2014). Calidad del pan fortificado con diferentes niveles de Harina de maní y sésamo. *Calidad del pan fortificado con diferentes niveles de Harina de maní y sésamo*. Universidad de Ciencia y Tecnología de Sudán, Sudán.
- Morales, A. (2024). Este es el ingrediente secreto para incluir la proteína de mejor calidad en tu desayuno diario. *Vogue México y Latinoamérica* .
- Mudgil, D. (2016). Optimización de la firmeza del pan, volumen específico de la barra y aceptabilidad sensorial del pan con fibra soluble y diferentes niveles de agua. *Optimización de la firmeza del pan, volumen específico de la barra y aceptabilidad sensorial del pan con fibra soluble y diferentes niveles de agua*. Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad de Ciencia y Tecnología Guru Jambheshwar, India, Guru Jambheshwar, India.
- Murcia, U. d. (2023). *Proteínas* . Obtenido de Proteínas: <https://www.um.es/molecula/prot06.htm#:~:text=La%20mayor%20parte%20de%20las,en%20muchos%20casos%20es%20irreversible>.

- Nasir, S. (2020). Características físicas, texturales, reológicas y sensoriales de Pan de harina de trigo a base de amaranto. *Características físicas, texturales, reológicas y sensoriales de Pan de harina de trigo a base de amaranto*. Universidad Islámica de Ciencia y Tecnología, Pulwama,, Pulwama, India.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. *NORMA Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos*. Secretaría de Salud.
- Nwosu. (2020). Características físicas y calidad sensorial del pan producido a partir de mezclas de harina de trigo y frijol africano. *Características físicas y calidad sensorial del pan producido a partir de mezclas de harina de trigo y frijol africano*. Departamento de Tecnología de Alimentos, Politécnico Federal, Estado de Oyo, Oyo, Nigeria.
- Oliag, P. T. (2020). Evaluación del color y tolerancia de color en alimentos a través del espacio CIELAB. *Universitat Politècnica de València*, 7.
- Pan. (2022). El pan y sus variedades. *El pan y sus variedades*.
- Paúl Monar-Barragán, G. L.-C.-T. (2019). Ustilago maydis como posible bioindicador de cultivos sanos de Zea mays . *Digital Library*, 73-80.
- Pycia, K. (2020). Propiedades fisicoquímicas y antioxidantes del trigo Pan Enriquecido con Avellanas y Nueces. *Propiedades fisicoquímicas y antioxidantes del trigo Pan Enriquecido con Avellanas y Nueces*. Ciencias Naturales, Universidad de Rzeszow, Zelwerowicza, Rzeszow, Zelwerowicza.
- Reinhart, P. (2020). Los fundamentos del pan. *Los fundamentos del pan*. Universidad Johnson & Wales, Carolina del Norte.
- RJ, M. (2023). composición próxima, características del pan y evaluación sensorial de panes compuestos de cocoyam-trigo. *posición próxima, características del pan y evaluación sensorial de panes compuestos de cocoyam-trigo*. Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Agricultura, Sokoine, Dodoma Tanzania.

- Romo, D. C. (2023). Protección de Cultivos. *Ustilago maydis*. Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena, España.
- Rózyło, R. (2011). predicción de la calidad del pan (volumen del pan y textura de la maza). *predicción de la calidad del pan (volumen del pan y textura de la maza)*. Departamento de Operación y Mantenimiento de Equipos en la Industria Alimentaria, Universidad de Ciencias de la Vida, Lublin, Polonia.
- Salazar, J. C. (2021). Historia, Aprovechamiento y Técnicas de Producción. En J. C. Salazar, *El Huitlacoche Alimento prehispánico vigente en México* (pág. 49). Estado de México: Impresos Studio Litográfico.
- Salud, S. d. (2008). NORMA Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. *NORMA Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios*. Secretaría de Salud, Estados Unidos Mexicanos.
- Santos Matías Solís, e. a. (2021). Evaluación nutracéutica de un pan tipo coyota a partir de harinas de trigo, frijol y nopal con mermelada de higo. *Evaluación nutracéutica de un pan tipo coyota a partir de harinas de trigo, frijol y nopal con mermelada de higo*.
- Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. (01 de Octubre de 2016). Obtenido de Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural: <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/algo-raro-y-suculento-es-el-huitlacoche>
- SEGOB. (2024). *SEGOB*. Obtenido de SEGOB: https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4829330&fecha=06/08/1979#gsc.tab=0
- Serrate, F. C. (2023). *Actividad del agua en alimentos: concepto, medida y aplicaciones*. Valencia, España: Universitat Politècnica de València.
- Serventia, L. (2018). Efecto del concentrado proteico de grabanzo sobre la calidad del pan compuesto de soja y trigo. *Efecto del concentrado proteico de grabanzo*

sobre la calidad del pan compuesto de soja y trigo. Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad Estatal de Ohio, OH, EE. U.

Solangi, I. A. (2017). Características del pan y propiedades sensoriales del pan integral Fortificado con Sorgo y Harina de Arroz. *Características del pan y propiedades sensoriales del pan integral Fortificado con Sorgo y Harina de Arroz*. Instituto de Ciencias y Tecnología de los Alimentos, Universidad Agrícola de Sindh, Tandojam, Pakistán.

Torres, J. C. (2018). susceptibilidad de maíces híbridos y criollos al huitlacoche (*Ustilago maydis* (d.c.) cda.), y rentabilidad de la producción, en Chapingo, México. *susceptibilidad de maíces híbridos y criollos al huitlacoche (Ustilago maydis (d.c.) cda.), y rentabilidad de la producción, en Chapingo, México*. Departamento de Preparadora Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco de Mora, estado de México.

Ushiñahua, M. C. (2020). Elaboración de pan. *elaboración de pan*. Universidad Nacional de San Martín, Tarapoto, Perú.

Vega, M. S. (2019). Diversidad de plagas de insectos que dañan la calidad de "Huitlacoche" en Saltillo, Coahuila, México. *Diversidad de plagas de insectos que dañan la calidad de "Huitlacoche" en Saltillo, Coahuila, México*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila.

Vega, Ó. (2015). propiedades físicas y sensoriales de un pan fresco, con la adición de las enzimas lacasa, xilanasa y lipasa. *propiedades físicas y sensoriales de un pan fresco, con la adición de las enzimas lacasa, xilanasa y lipasa*. Escuela de Ingeniería de Antioquia, Colombia

CAPÍTULO VII

ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza del porcentaje de humedad

Humedad

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Humedad	9	1.00	1.00	0.25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	112.86	2	56.43	3870.02	<0.0001
Tratamientos	112.86	2	56.43	3870.02	<0.0001
Error	0.09	6	0.01		
Total	112.95	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.24126

Error: 0.0146 gl: 6

Tratamientos Medias n E.E.

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T3-25%HH	50.86	3	0.07 A
T2-50%HH	50.11	3	0.07 B
T1-100%HT	43.00	3	0.07 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 2. Análisis de varianza del porcentaje de cenizas

Cenizas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Cenizas	9	0.96	0.95	5.03

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.66	2	0.33	72.05	0.0001
Tratamientos	0.66	2	0.33	72.05	0.0001
Error	0.03	6	4.6E-03		
Total	0.68	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.13477

Error: 0.0046 gl: 6

Tratamientos Medias n E.E.

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T2-50%HH	1.72	3	0.04 A
T1-100%HT	1.22	3	0.04 B
T3-25%HH	1.09	3	0.04 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 3. Análisis de varianza del porcentaje de proteína

Proteína Cruda

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Proteína Cruda	9	1.00	1.00	3.22

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	31.62	2	15.81	1021.13	<0.0001
Tratamientos	31.62	2	15.81	1021.13	<0.0001
Error	0.09	6	0.02		
Total	31.72	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.24862

Error: 0.0155 gl: 6

Tratamientos Medias n E.E.

T1-100%HT	6.51	3	0.07	A
T2-50%HH	2.68	3	0.07	B
T3-25%HH	2.41	3	0.07	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 4. Análisis de varianza del porcentaje de grasa

Grasas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Grasas	9	0.98	0.97	0.91

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.87	2	1.44	151.29	<0.0001
Tratamientos	2.87	2	1.44	151.29	<0.0001
Error	0.06	6	0.01		
Total	2.93	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.19466

Error: 0.0095 gl: 6

Tratamientos Medias n E.E.

T1-100%HT	11.16	3	0.06	A
T3-25%HH	11.03	3	0.06	A
T2-50%HH	9.90	3	0.06	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 5. Análisis de varianza del porcentaje de fibra

Fibra

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Fibra	9	0.99	0.99	9.02

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	21.73	2	10.87	297.61	<0.0001
Tratamientos	21.73	2	10.87	297.61	<0.0001
Error	0.22	6	0.04		
Total	21.95	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.38176

Error: 0.0365 gl: 6

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T3-25%HH	1.37	3	0.11	B
T2-50%HH	4.28	3	0.11	A
T1-100%HT	0.70	3	0.11	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 6. Análisis de varianza del porcentaje de carbohidratos

Carbos

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Carbos	9	0.94	0.92	5.43

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	357.26	2	178.63	47.92	0.0002
Tratamientos	357.26	2	178.63	47.92	0.0002
Error	22.36	6	3.73		
Total	379.63	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=3.85725

Error: 3.7274 gl: 6

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T1-100%HT	44.22	3	1.11	A
T3-25%HH	33.01	3	1.11	B
T2-50%HH	29.43	3	1.11	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 7. Análisis de varianza color *L

Colorímetro L

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Colorímetro L	9	1.00	0.99	2.31

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1174.07	2	587.04	776.41	<0.0001
Tratamientos	1174.07	2	587.04	776.41	<0.0001
Error	4.54	6	0.76		
Total	1178.61	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=1.73724

Error: 0.7561 gl: 6

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T1-100%HT	53.60	3	0.50	A
T3-25%HH	31.53	3	0.50	B
T2-50%HH	27.68	3	0.50	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 8. Análisis de varianza color *a

Colorímetro a

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Colorímetro a	9	0.99	0.99	8.04

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	145.65	2	72.83	400.15	<0.0001
Tratamientos	145.65	2	72.83	400.15	<0.0001
Error	1.09	6	0.18		
Total	146.75	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.85233

Error: 0.1820 gl: 6

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T1-100%HT	10.90	3	0.25	A
T3-25%HH	3.39	3	0.25	B
T2-50%HH	1.63	3	0.25	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 9. Análisis de varianza color *b

Colorímetro b

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Colorímetro b	9	1.00	1.00	3.55

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1073.69	2	536.84	2553.30	<0.0001
Tratamientos	1073.69	2	536.84	2553.30	<0.0001
Error	1.26	6	0.21		
Total	1074.95	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.91611

Error: 0.2103 gl: 6

Tratamientos Medias n E.E.

T1-100%HT	28.15	3	0.26	A
T3-25%HH	7.57	3	0.26	B
T2-50%HH	3.06	3	0.26	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo.10. Análisis de varianza de Aw

Aw

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Aw	9	0.61	0.48	1.10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6.2E-04	2	3.1E-04	4.67	0.0599
Tratamientos	6.2E-04	2	3.1E-04	4.67	0.0599
Error	4.0E-04	6	6.7E-05		
Total	1.0E-03	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.01631

Error: 0.0001 gl: 6

Tratamientos Medias n E.E.

T1-100%HT	0.76	3	4.7E-03	A
T3-25%HH	0.74	3	4.7E-03	A B
T2-50%HH	0.74	3	4.7E-03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 11. Análisis de varianza de firmeza

Texturometro

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Texturometro	9	0.92	0.90	8.56

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	31.71	2	15.86	35.13	0.0005
Tratamientos	31.71	2	15.86	35.13	0.0005
Error	2.71	6	0.45		
Total	34.42	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=1.34226

Error: 0.4514 gl: 6

Tratamientos Medias n E.E.

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T1-100%HT	10.30	3	0.39 A
T3-25%HH	7.53	3	0.39 B
T2-50%HH	5.73	3	0.39 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 12. Análisis de varianza de flavonoides

FLA y TAN

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
FLA y TAN	9	0.94	0.92	9.80

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	237488.54	2	118744.27	46.88	0.0002
Tratamientos	237488.54	2	118744.27	46.88	0.0002
Error	15196.53	6	2532.75		
Total	252685.07	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=100.54701

Error: 2532.7546 gl: 6

Tratamientos Medias n E.E.

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T2-50%HH	727.92	3	29.06 A
T3-25%HH	477.08	3	29.06 B
T1-100%HT	335.00	3	29.06 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 13. Análisis de varianza de actividad antioxidante mediante técnica de DPPH

DPPH 0

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DPPH 0	9	0.82	0.77	6.06

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	844699.66	2	422349.83	14.07	0.0054
Tratamientos	844699.66	2	422349.83	14.07	0.0054
Error	180063.01	6	30010.50		
Total	1024762.67	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=346.10608

Error: 30010.5019 gl: 6

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T1-100%HT	3242.92	3	100.02 A
T2-50%HH	2835.70	3	100.02 B
T3-25%HH	2493.43	3	100.02 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 14. Análisis de varianza de actividad antioxidante mediante técnica de ABTS

ABTS 0

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ABTS 0	9	0.99	0.99	3.73

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.12	2	0.06	291.04	<0.0001
Tratamientos	0.12	2	0.06	291.04	<0.0001
Error	1.3E-03	6	2.1E-04		
Total	0.12	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.02897

Error: 0.0002 gl: 6

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T1-100%HT	0.55	3	0.01 A
T2-50%HH	0.34	3	0.01 B
T3-25%HH	0.28	3	0.01 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 15. Análisis de varianza de la apariencia global

Apariencia Global

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Apariencia Global	129	0.08	0.06	21.51

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	15.12	2	7.56	5.11	0.0073
Muestra	15.12	2	7.56	5.11	0.0073
Error	186.19	126	1.48		
Total	201.30	128			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.51881

Error: 1.4777 gl: 126

Muestra Medias n E.E.

T3-25%HH 5.30 43 0.19 B

T2-50%HH 5.53 43 0.19 B

T1-100%HT 6.12 43 0.19 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 16. Análisis de varianza de olor

Olor

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Olor	129	0.29	0.28	20.74

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	64.76	2	32.38	25.78	<0.0001
Muestra	64.76	2	32.38	25.78	<0.0001
Error	158.28	126	1.26		
Total	223.04	128			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.47835

Error: 1.2562 gl: 126

Muestra Medias n E.E.

T2-50%HH 4.70 43 0.17 B

T3-25%HH 5.14 43 0.17 B

T1-100%HT 6.37 43 0.17 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 17. Análisis de varianza del color

Color

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Color	129	0.10	0.08	21.90

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	20.20	2	10.10	6.68	0.0017
Muestra	20.20	2	10.10	6.68	0.0017
Error	190.42	126	1.51		
Total	210.62	128			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.52467

Error: 1.5113 gl: 126

Muestra	Medias	n	E.E.
T3-25%HH	5.19	43	0.19 B
T2-50%HH	5.51	43	0.19 B
T1-100%HT	6.14	43	0.19 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 18. Análisis de varianza de sabor

Sabor

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Sabor	129	0.11	0.09	28.39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	31.40	2	15.70	7.51	0.0008
Muestra	31.40	2	15.70	7.51	0.0008
Error	263.49	126	2.09		
Total	294.88	128			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.61719

Error: 2.0912 gl: 126

Muestra	Medias	n	E.E.
T2-50%HH	4.40	43	0.22 B
T1-100%HT	5.44	43	0.22 A
T3-25%HH	5.44	43	0.22 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 19. Análisis de varianza de la aceptación global

Aceptación Global

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Aceptación Global	129	0.15	0.14	20.29

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	26.81	2	13.40	11.35	<0.0001
Muestra	26.81	2	13.40	11.35	<0.0001
Error	148.79	126	1.18		
Total	175.60	128			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.46379

Error: 1.1809 gl: 126

Muestra	Medias	n	E.E.	
T2-50%HH	4.79	43	0.17	C
T3-25%HH	5.37	43	0.17	B
T1-100%HT	5.91	43	0.17	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)