



**UNIVERSIDAD
DEL AZUAY**

Facultad de Ciencia y Tecnología

Ingeniería de Alimentos

“Extensión de vida útil de productos no leudados: Caso brownie Dulco”

Trabajo de graduación previo a la obtención del título de:

INGENIERA DE ALIMENTOS

Autora:

DANIELA DEL ROCÍO AGUILAR CASTRO

Director:

MARCO ANTONIO LAZO VÉLEZ

CUENCA – ECUADOR

2021

DEDICATORIA

Dedico la presente tesis a Dios, por guiar mi camino, bendecirme en este proceso y culminar con éxito mi carrera universitaria.

A mis padres y hermano por brindarme un apoyo incondicional y ser mi soporte en la vida universitaria.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco infinitamente a los profesores de la carrera de Ingeniería en Alimentos, por las enseñanzas y conocimientos impartidos durante todos estos años, en especial a Ing. Marco Lazo Vélez, PhD, que con su paciencia y dedicación han transmitido nuevos e innovadores conocimientos sobre mí.

A mis amigos y compañeros de la carrera de Ingeniería en Alimentos que, con su gran apoyo y amistad, conseguimos finalizar esta etapa de nuestras vidas. Y en especial a mis amigas María Cirila y María Elisa que supieron guiar mi camino en el proceso de elaboración de este trabajo de titulación.

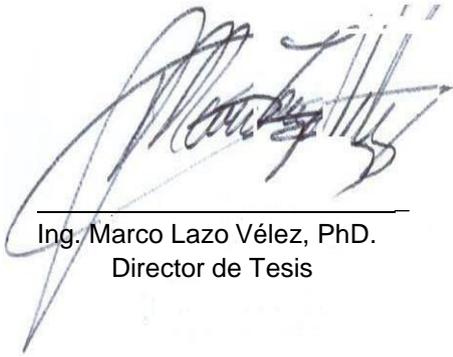
A la Universidad del Azuay, a toda su directiva, por formar parte de mí proceso de formación académica.

Extensión de vida útil de productos no leudados: Caso brownie Dulco

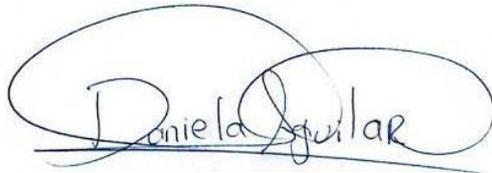
RESUMEN

Este trabajo de investigación elaboró un estudio acerca de la extensión de la vida útil de un brownie de la empresa "Dulco". En primer lugar, se procedió a la estandarización de la formulación, teniendo como base la fórmula original añadiendo conservantes como sorbato de potasio y propionato de calcio siguiendo la norma general del Códex Alimentarius para los aditivos alimentarios NTE INEN-CODEX 192:2013. Posteriormente, se determinaron curvas predictivas del crecimiento de los microorganismos para mohos y levaduras a través del programa "ComBase". Finalmente, se analizaron las características físicas químicas del brownie como, pH, acidez titulable, humedad y actividad del agua.

Palabras claves: brownie, ComBase, producto no leudado, vida útil.



Ing. Marco Lazo Vélez, PhD.
Director de Tesis



Daniela del Rocío Aguilar Castro
Autor



Ing. Ma. Fernanda Rosales M.
Coordinadora de la Escuela
Ingeniería en alimentos

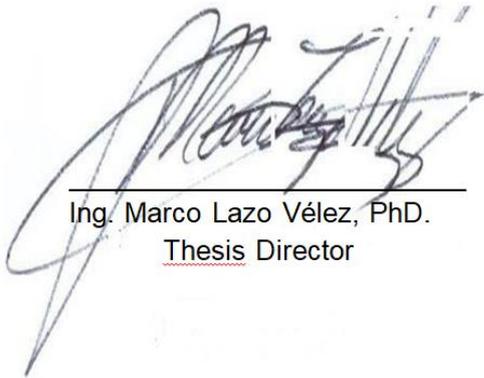
Shelf-life extension of unleavened products: Dulco brownie case

ABSTRACT

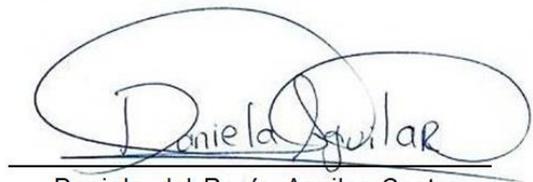
This research carried out a study about the shelf-life extension of a brownie from the company

"Dulco". First, the formulation was standardized, based on the original formula. The preservatives such as potassium sorbate and calcium propionate were added. Next, the food code of the Codex Alimentarius for additives NTE INEN-CODEX 192: 2013 were added. Subsequently, predictive growth model of microorganisms for molds and yeasts were determined through the "ComBase" program. Finally, the physical-chemical characteristics of the brownie were analyzed, such as pH, titratable acidity, humidity and water activity.

Keywords: brownie, ComBase, unleavened product, shelf-life



Ing. Marco Lazo Vélez, PhD.
Thesis Director

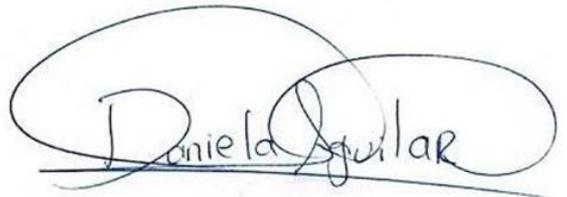


Daniela del Rocío Aguilar Castro
Author



Ing. Ma. Fernanda Rosales M.
Food Engineering Faculty
Coordinator

Translated By



Daniela del Rocío Aguilar Castro



ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
RESUMEN	¡Error! Marcador no definido.
ABSTRACT.....	¡Error! Marcador no definido.
ÍNDICE DE CONTENIDOS	ii
ÍNDICE DE TABLAS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	3
MATERIALES Y MÉTODOS	3
1.1 FÓRMULACIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	3
1.2 DETERMINACIÓN DE CURVAS PREDICTIVAS DEL CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS	5
1.3 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS DEL BROWNIE..	5
1.4 DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS.....	5
1.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	5
CAPÍTULO II	7
RESULTADOS	7
2.1 RESULTADOS DE CURVAS PREDICTIVAS DEL CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS	7
2.2 RESULTADOS DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS.....	8
CAPÍTULO III.....	11
DISCUSIÓN	11
3.1 CURVAS PREDICTIVAS DEL CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS	11
3.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS	11
CONCLUSIÓN	13

BIBLIOGRAFÍA 14

ÍNDICE DE TABLAS

***Tabla 1.* Formulaciones utilizadas para la elaboración de los brownies 3**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de proceso para la elaboración de los brownies.....	4
Figura 2. Curvas predictivas del crecimiento de microorganismos.....	7
Figura 3. Variación de pH en las diferentes muestras.	9
Figura 4. Variación de % acidez titulable en las diferentes muestras.	9
Figura 5. Variación de % humedad en las diferentes muestras.	10
Figura 6. Variación de % aw en las diferentes muestras.	10

Daniela del Rocío Aguilar Castro

Trabajo de Graduación

Ing. Marco Lazo Vélez, PhD.

Septiembre, 2021

INTRODUCCIÓN

La vida útil de un alimento se define como el tiempo finito en el que un producto mantiene sus propiedades sensoriales, fisicoquímicas y de seguridad alimentaria (microbiológicas) propias del alimento, bajo determinadas condiciones de almacenamiento. Este tiempo va desde la elaboración del alimento hasta cuando el producto ya no mantiene las cualidades requeridas (Corradini & Peleg, 2007). La vida útil depende de factores como humedad y temperatura a la cual se expone el alimento, el proceso térmico que sufre, de la calidad de las materias primas que lo componen, entre otros. La exposición a estos factores provoca pérdida de nutrientes, cambios de sabor, color o textura y alteraciones microbiológicas visibles (Baldizón, Córdoba, & Valle, 2011).

Para determinar la vida útil de un producto, se utilizan pruebas aceleradas que permiten obtener información en tiempos relativamente cortos. Pruebas que consisten en incubar el alimento bajo condiciones controladas (temperatura y humedad relativa) para conocer las pérdidas de calidad sensorial y sus posibles alteraciones químicas y microbiológicas (Mizrahi, 2004). Sin embargo, para la determinación del crecimiento microbiano se pueden calcular curvas predictivas del crecimiento de los microorganismos utilizando paquetes informático como "ComBase" (Combined Database of Microbial Responses to Food Environments) el cual es un repositorio de datos online que describe la supervivencia y crecimiento de microorganismos patógenos en distintas condiciones ambientales, esta es una herramienta de software predictivo basado en datos experimentales de distintos autores, la cual se utiliza para la comparación y validación de modelos predictivos (Baranyi & Tamplin, 2004).

El brownie es una masa batida de chocolate sin agentes leudantes, con superficie crocante y centro húmedo blando. Su textura en boca puede parecer a la de una torta húmeda, pesada y muy dulce por su gran cantidad de azúcar; su conservación requiere mantener al máximo la vida útil del producto, por ello es de vital importancia controlar las etapas de latencia y aceleración positiva del grado de descomposición. Por lo general, este tipo de producto se debe almacenar en un lugar donde el ambiente sea fresco y seco para lograr una mayor estabilidad en su vida de anaquel (López Jaramillo, 2018). Estos productos son fácilmente atacados por mohos y levaduras debido a su alta actividad de agua, siendo éste el principal problema que afecta su vida útil.

De ahí que, considerando que la industria de alimentos requiere extender la vida útil de los productos para garantizar al consumidor que el alimento adquirido mantendrá el buen estado del producto durante el tiempo de consumo declarado en su etiqueta, el objetivo de este estudio fue determinar las curvas predictivas del crecimiento de microorganismos de una nueva formulación de un producto no leudado (brownie) de la empresa "Dulco", utilizando el paquete informático ComBase. Además de registrar los cambios de sus características físico químicas en un proceso controlado (30°C y 80% de HR) por 74 días.

CAPÍTULO I

MATERIALES Y MÉTODOS

1.1 FÓRMULACIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para la presente investigación se prepararon 3 diferentes formulaciones (Tabla 1) teniendo como base la fórmula original de brownie empleada por la empresa “Dulco”, la cual se consideró como muestra control (MC). 1) la primera sin los conservantes de la fórmula original (MS), 2) la segunda añadiendo glucosa 21 g/100 de harina, sorbato de potasio 0.3 g/100g de harina y propionato de calcio 1,0 g/100g de harina (MA), finalmente 3) la tercera formulación se añadió glucosa 21 g/100g de harina, sorbato de potasio 0.4 g/100g de harina y propionato de calcio 1.2 g/100g de harina (MB) (Tabla 1). Todas estas formulaciones siguieron la norma general del Códex para los aditivos alimentarios (MOD) NTE INEN-CODEX 192:2013.

Tabla 1. Formulaciones utilizadas para la elaboración de los brownies

INGREDIENTES	Porcentajes (g/100g de harina)			
	MC	MS	MA	MB
Harina	100	100	100	100
Huevos	85,8	85,8	85,8	85,8
Azúcar	70,2	70,2	49,1	49,1
Cacao en polvo	62,9	62,9	62,9	62,9
Margarina	83	83,0	83	83
Esencia de vainilla	0,3	0,3	0,3	0,3
Sal	0,7	0,7	0,7	0,7
Propionato de calcio	0,3	0	1	1,2
Benzoato de sodio	0,1	0	0	0
Sorbato de potasio	0,1	0	0,3	0,4
Jarabe de glucosa	0	0	21	21
	403,4	402,8	404,1	404,4

MC: Fórmula original; MS: Fórmula sin conservantes; MA: Fórmula modificada con glucosa 21 g/100 de harina, sorbato de potasio 0.3 g/100g de harina y propionato de calcio 1,0 g/100g de harina; MB: Fórmula modificada añadiendo glucosa 21 g/100g de harina, sorbato de potasio 0.4 g/100g de harina y propionato de calcio 1.2 g/100g de harina.

Los brownies fueron elaborados en las instalaciones de la empresa “Dulco” (Cuenca-Ecuador) siguiendo el procedimiento habitual de preparación (Figura 1) y con ingredientes de uso corriente en dicha empresa, para este tipo de producto.

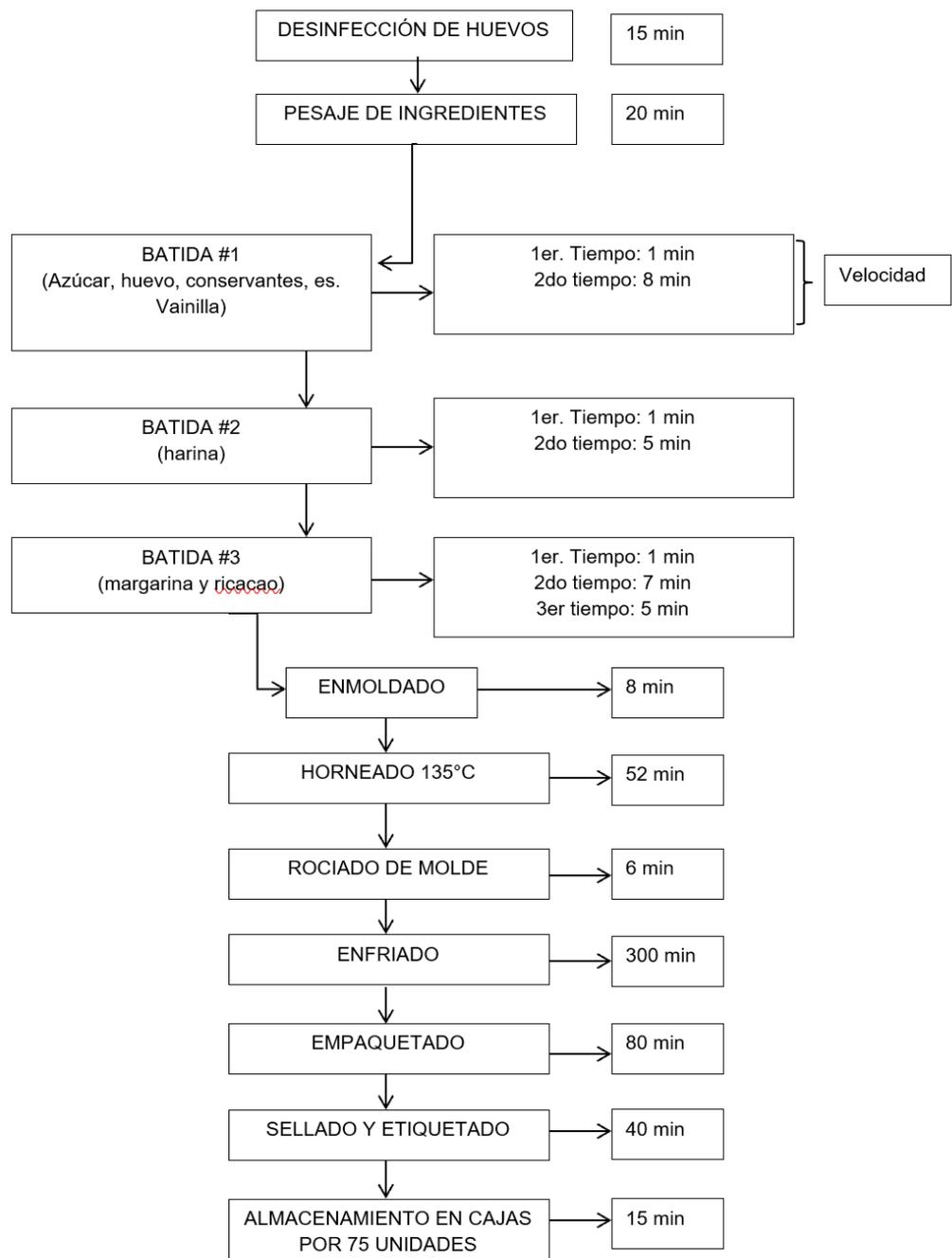


Figura 1. Diagrama de proceso para la elaboración de los brownies

1.2 DETERMINACIÓN DE CURVAS PREDICTIVAS DEL CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS

Para determinar las curvas predictivas del crecimiento de los microorganismos durante el almacenamiento del brownie, en primer lugar, se introdujeron 35 muestras de 60 g de cada formulación, en una cámara climática (Binder Inc., Alemania) a una temperatura de 30°C y una humedad del 80% por 74 días. Cada 7 días, se sacó una muestra de cada formulación y se procedió a realizar los análisis microbiológicos y proximales. Estas pruebas se realizaron por triplicado hasta completar los 74 días o hasta observar la presencia de moho visible.

Posteriormente, para calcular las curvas predictivas del crecimiento de los microorganismos se utilizó el paquete informático "ComBase" (<https://www.combase.cc/index.php/en/>), el cual es un software predictivo que permite calcular curvas microbianas de crecimiento y supervivencia en distintas condiciones de procesamiento y almacenamiento, para ello se utilizó una curva predictiva de mohos y levaduras, insertando los datos experimentales correspondientes a los 74 días de análisis microbiológicos utilizando el logaritmo de las unidades formadoras de colonias (log UFC/g).

1.3 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS DEL BROWNIE

El recuento de mohos y levaduras, y aerobios mesófilos totales se realizaron de acuerdo con las normas NTE INEN 1529-10:98 y NTE INEN 1529-5:2006, respectivamente.

1.4 DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS

La determinación de la composición proximal de las muestras obtenidas en la sección 1.3 fueron realizadas considerando los siguientes parámetros y técnicas: a) pH y acidez titulable según los métodos para masas AOAC 943.02, 981.12 y AACC 02-31.01 respectivamente. En estos métodos, se utiliza una cantidad de masa específica dependiendo del parámetro a calcular, en este caso 30 gramos, se añade agua destilada y se homogeniza por 10 minutos. El resultado final de la homogenización se deja reposar por 30 minutos. Finalmente, el residuo líquido se utiliza para analizar el pH y la acidez titulable (AOAC, 1999), (AACC International, 2010); c) humedad por secado en estufa con el método (NTE INEN 1632:2012); y d) actividad de agua con el instrumento TESTO® 445-TESTO® 645 (Testo S.A., Cabriels, España).

1.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis microbiológicos y los fisicoquímicos de las muestras obtenidas durante los 74 días de tratamiento se realizaron por triplicado. El análisis estadístico fue realizado por un análisis de la varianza ANOVA. La comparación de medias se realizó por el test de t-student

o Tukey HSD, con un nivel de significancia de $p < 0,05$. Los datos fueron analizados usando el software Minitab, LLC (State Collage, Pennsylvania, EE. UU).

CAPÍTULO II

RESULTADOS

2.1 RESULTADOS DE CURVAS PREDICTIVAS DEL CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS

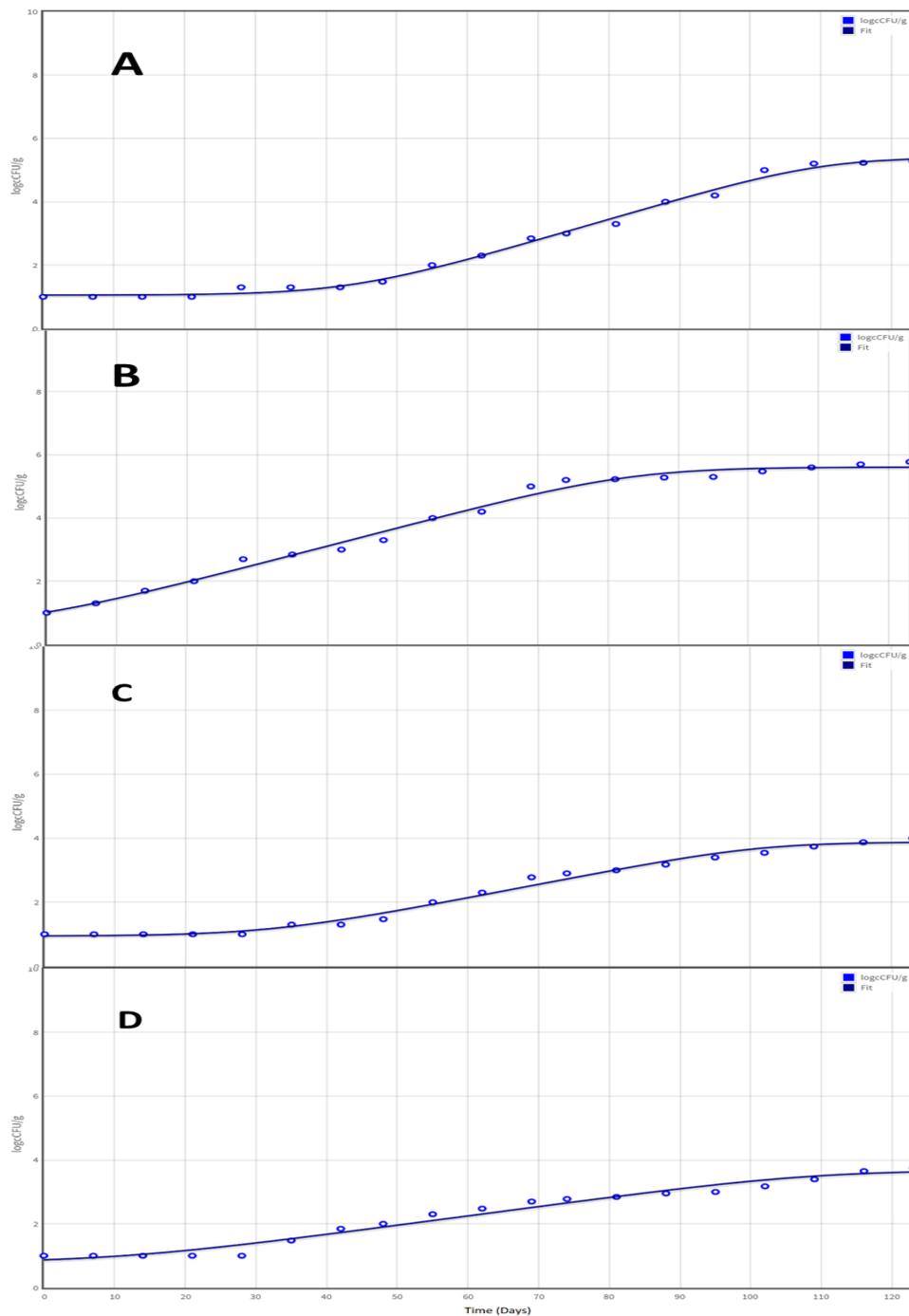


Figura 2 .Curvas predictivas del crecimiento de microorganismos A: de la fórmula original (MC); B: de la fórmula sin conservantes (MS); C: de la fórmula modificada con glucosa 21 g/100 de harina, sorbato de potasio 0.3 g/100g de harina y propionato de calcio 1,0 g/100g de harina); D: Fórmula modificada añadiendo glucosa 21 g/100g de harina, sorbato de potasio 0.4 g/100g de harina y propionato de calcio 1.2 g/100g de harina (MB).

En las gráficas de la Figura 2 podemos observar que la fase logarítmica de crecimiento de microorganismo de la fórmula original (A) empieza a partir del día 50 llegando su máximo en el día 120 con un aproximado de log 6 microorganismos. Mientras que, la fórmula sin conservantes (B) tiene un crecimiento abrupto de microorganismos a partir del día 20 llegando igualmente a su máximo en el día 120 con log 6 microorganismos. Las formulaciones con preservantes (C y D), se puede observar que existe un crecimiento menor en los primeros 20 días, empezando su fase logarítmica de crecimiento al día 60 y manteniéndose así hasta llegar log 4 a los 120 días. En las formulaciones C y D, se observa una notable disminución en la curva de crecimiento de los microorganismos, comparadas con las formulaciones de A y B llegando a disminuir hasta 2 logaritmos.

2.2 RESULTADOS DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS

Los resultados de las variaciones de las características fisicoquímicas de las diferentes formulaciones analizadas durante los 74 días pueden observarse en la (Figura 3) para los resultados de pH; en la (Figura 4) para la acidez titulable; en la (Figura 5) para la humedad relativa y finalmente en la (Figura 6) para la actividad de agua.

En el caso del pH, este disminuye en todas las muestras analizadas. Sin embargo, se puede observar que las formulaciones MC y MS comienzan con pH superiores a las muestras MA y MB (Figura 3). Los valores de pH para las dos primeras muestras alcanzaron a los 76 días valores de 6, siendo estas menor a los pH y con una caída de pH de aproximadamente un 50% más que las segundas. Los valores de acidez titulable se incrementaron en consecuencia de la disminución de pH en todas las muestras. Las formulaciones de MC y MS empezaron con un valor de acidez menor comparadas con las muestras de MA y MB (Figura 4). Este valor se fue incrementando hasta llegar a un porcentaje 0.24-0.25% para las muestras de MC y MS, mientras que las muestras de MA y MB llegaron hasta un valor 0.20-0.21% al alcanzar el día 76.

Por otro lado, la humedad y la actividad del agua se vieron afectada por la presencia de la glucosa y los conservantes (sorbato de potasio, propionato de calcio). Como se puede observar en la Figura 5, las muestras de MC y MS empiezan con un porcentaje de humedad del 15%, este porcentaje se incrementa a medida que el tiempo transcurre llegando hasta el día 76 a una humedad entre el 19-21%. Las formulaciones de MA y MB, mantienen el valor de humedad inicial, incrementándose poco a poco hasta llegar al día 76 con una humedad entre 17-18%.

De igual forma, la Figura 6 muestra los resultados de actividad del agua, en donde los valores de MC y MS son altos llegando a un % aw entre 84-88, en cambio los valores de MA y MB comienzan con un % aw de 79 y este incrementa hasta 81 hasta el día 76. Cabe recalcar que los valores de humedad y actividad del agua son altos en la muestra MC debido a que esta no contiene conservantes.

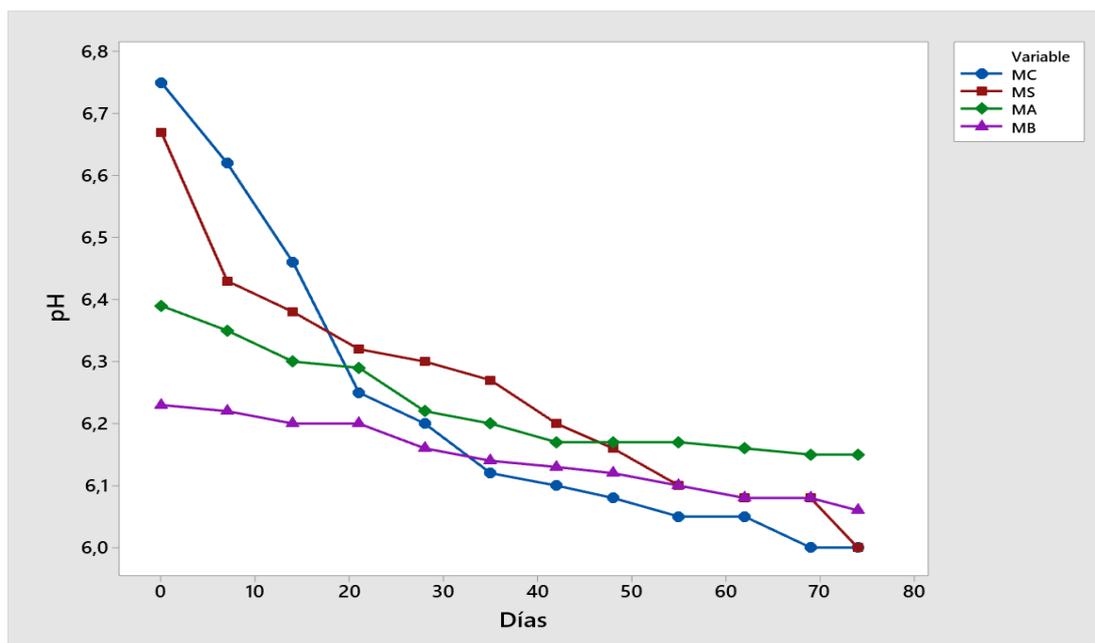


Figura 3. Variación de pH en las diferentes muestras. MC: Fórmula original; MS: Fórmula sin conservantes; MA: Fórmula modificada con glucosa 21 g/100 de harina, sorbato de potasio 0.3 g/100g de harina y propionato de calcio 1,0 g/100g de harina; MB: Fórmula modificada añadiendo glucosa 21 g/100g de harina, sorbato de potasio 0.4 g/100g de harina y propionato de calcio 1.2 g/100g de harina.

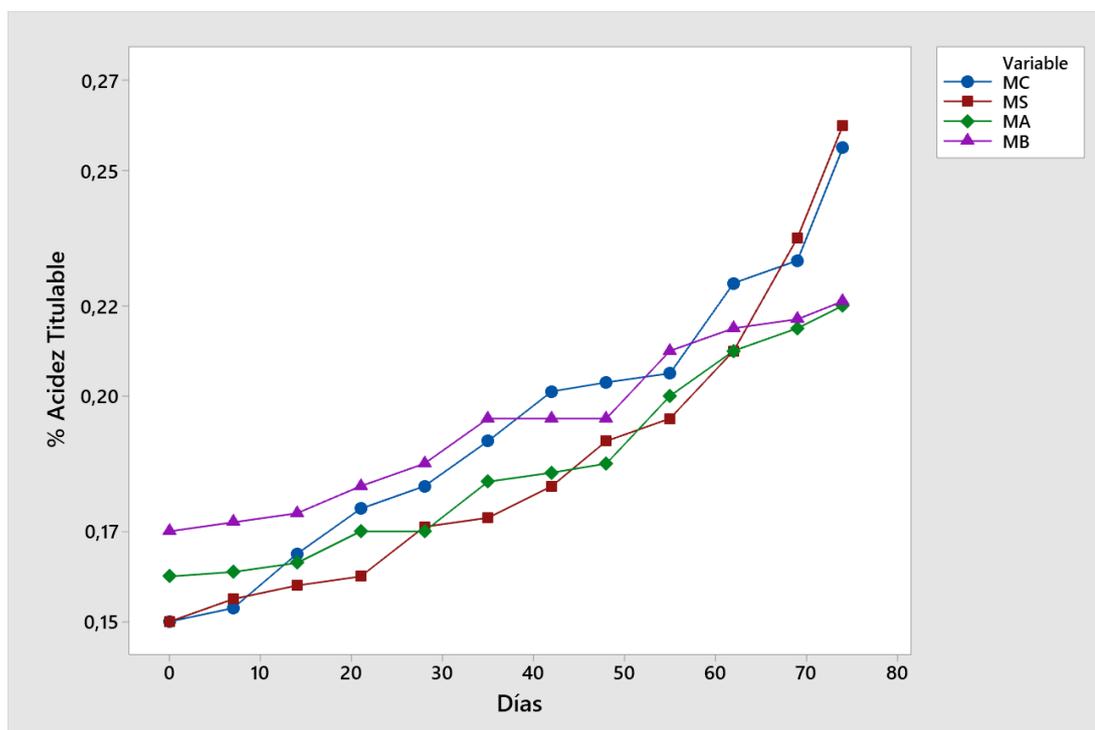


Figura 4. Variación de % acidez titulable en las diferentes muestras. MC: Fórmula original; MS: Fórmula sin conservantes; MA: Fórmula modificada con glucosa 21 g/100 de harina, sorbato de potasio 0.3 g/100g de harina y propionato de calcio 1,0 g/100g de harina; MB: Fórmula modificada añadiendo glucosa 21 g/100g de harina, sorbato de potasio 0.4 g/100g de harina y propionato de calcio 1.2 g/100g de harina.

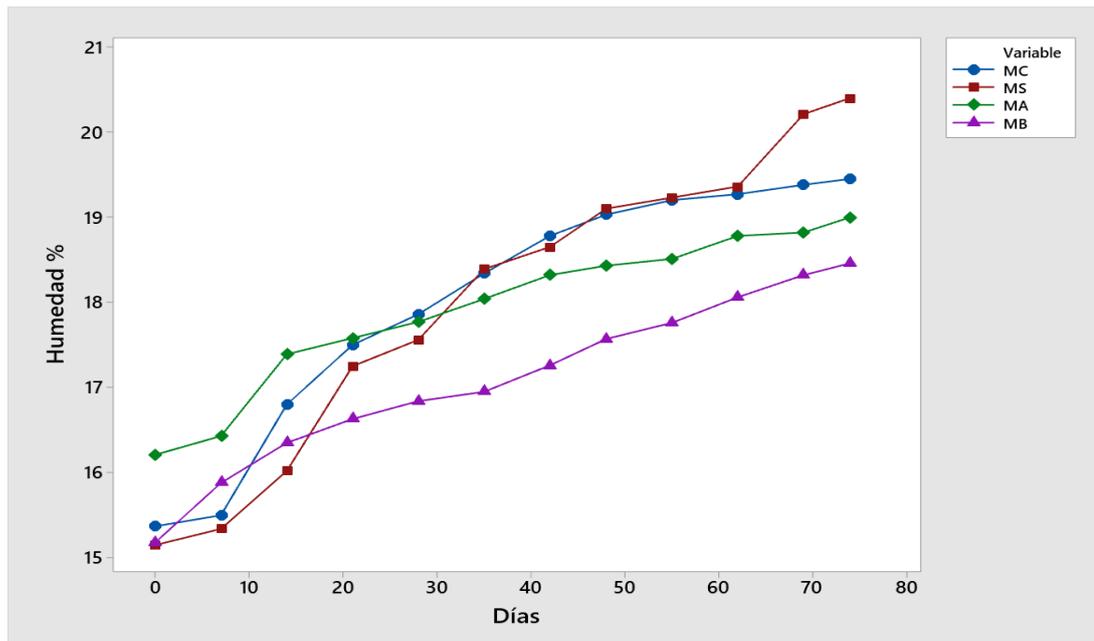


Figura 5. Variación de % humedad en las diferentes muestras. MC: Fórmula original; MS: Fórmula sin conservantes; MA: Fórmula modificada con glucosa 21 g/100 de harina, sorbato de potasio 0.3 g/100g de harina y propionato de calcio 1,0 g/100g de harina; MB: Fórmula modificada añadiendo glucosa 21 g/100g de harina, sorbato de potasio 0.4 g/100g de harina y propionato de calcio 1.2 g/100g de harina.

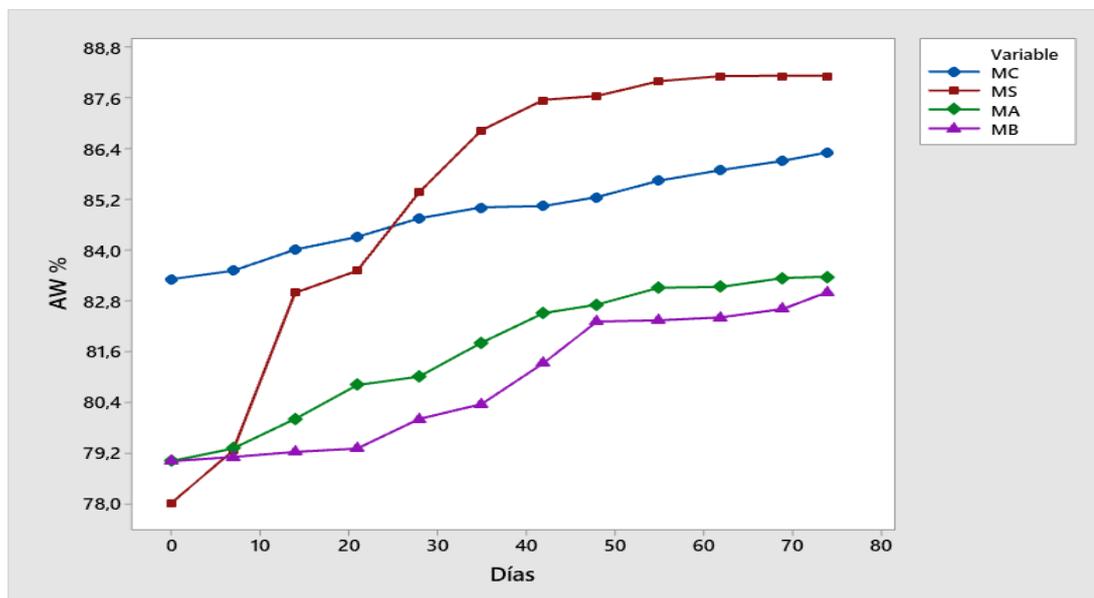


Figura 6. Variación de % aw en las diferentes muestras. MC: Fórmula original; MS: Fórmula sin conservantes; MA: Fórmula modificada con glucosa 21 g/100 de harina, sorbato de potasio 0.3 g/100g de harina y propionato de calcio 1,0 g/100g de harina; MB: Fórmula modificada añadiendo glucosa 21 g/100g de harina, sorbato de potasio 0.4 g/100g de harina y propionato de calcio 1.2 g/100g de harina.

CAPÍTULO III

DISCUSIÓN

3.1 CURVAS PREDICTIVAS DEL CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS

En el presente estudio, se modeló el crecimiento microbiano a través de una base de datos, adquirida en el software "ComBase". Una de las funciones de "ComBase" en la microbiología predictiva es proporcionar una gran cantidad de datos con los que se pueda modelar y predecir una curva de crecimiento, esto lo señala McMeekin (2013), en su artículo, donde utiliza diferentes bases de datos, para estimar el crecimiento microbiano dentro de la región de interpolación, utilizando el modelo matemático de Baranyi y Roberts (1994) para ajustar los datos. De la misma forma, Zapata (2020) indica que, una vez obtenidos los conteos microbianos, el programa calcula el promedio y con estos valores, se construyen las curvas de crecimiento para cada combinación de factores en cada alimento-microorganismo. Además, el modelo se ajusta, utilizando el coeficiente de determinación (R^2) y el error estándar de ajuste (SE o Fit). Como se observa en la Figura 2, se predijo el crecimiento mohos y levaduras en un rango de 120 días, utilizando una base de datos del pan blanco. Cabe recalcar que se utilizó éste, ya que no existe para productos no leudados, como los brownies. Finalmente, estos resultados son fiables ya que, el programa "ComBase", al tener diferentes bases de datos estas se ajustan a un modelo predictivo, dando como resultado la cinética de crecimiento de un microorganismo, siendo estos resultados avalados por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA).

3.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS

Yeom, *et al.* (2016), en su artículo, analiza diferentes características de un brownie común. Los autores obtuvieron resultados similares a la muestra MC, en donde, varía en decimales el contenido de pH, % acidez, % humedad y % aw (Figura 3, 4, 5 y 6). Hay que mencionar que la investigación de Yeom, estima durante 5 días sus resultados, mientras que, en este estudio los resultados se analizaron hasta los 76 días. Por otro lado, estos resultados se encuentran dentro de la norma sanitaria para la fabricación, elaboración y expendio de productos de panificación, galletería y pastelería (RM N° 1020-2010/MINSA) en donde, el límite de humedad es hasta el 40%, pH hasta entre 6 y 6.8, actividad del agua hasta un máximo de 0.8 y acidez con un máximo de 0.30 %. A pesar del transcurso del tiempo, los resultados se encuentran dentro de la norma en los primeros 60 días a excepción de la actividad del agua, que esta en el día 30 sobrepasa el parámetro de la norma.

Por otra parte, el efecto del sorbato de potasio y propionato de calcio, al ser sales del ácido sórbico y ácido propiónico respectivamente reducen el pH, acidificando al alimento para así favorecer su actividad frente a los microorganismos inhibiendo el crecimiento de mohos y levaduras aumentando sus valores de acidez (Flores Millingalle, 2010). Además, ayudan a mantener la actividad del agua en un rango en el cual los microorganismos no pueden multiplicarse, manteniendo la humedad inicial del alimento (Balarezo, 2011). Este fenómeno se lo pude ver claramente en los resultados de pH, acidez, humedad y actividad del agua, en donde las formulaciones de MA y MB al contener estos conservantes, disminuyen el pH y aumentan la acidez del brownie disminuyendo en incrementándose gradualmente a medida que pasaban los días. Mientras que la humedad y actividad del agua de estas formulaciones se mantuvieron, incrementando ligeramente en el transcurso de los 74 días de estudio. Dando como resultado que estas muestras fuesen las mejores del estudio manteniendo sus parámetros fisicoquímicos conforme el tiempo transcurría.

CONCLUSIÓN

Considerando los resultados obtenidos, se logró estandarizar la formulación del brownie, por ende, la cantidad de conservantes (sorbato de potasio y propionato de calcio), controlaron el crecimiento de mohos y levaduras, mejorando las características físicas químicas y prolongando la vida útil del producto. De igual manera, al agregar glucosa a la formulación ayudó a la textura del brownie.

Por otro lado, se espera que con este trabajo de titulación, sirva como fuente de información para futuras investigaciones, ya que es necesario recalcar que, a nivel nacional, no existe estudios suficientes sobre productos no leudados como el brownie.

BIBLIOGRAFÍA

- AACC. (2010). AACC International Approved Methods, 11th ed. Titratable Acidity Method 02-31.01. Approved November 3, 2010. AACC International Approved Methods. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1094/AACCIntMethod-02-31.01>
- AOAC. (1999). Official methods of analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Alin, A. (2010). Minitab. Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics, 2(6), 723–727.
- Balarezo, P. J. (2011). Evaluación del uso de Propionato de calcio y Sorbato de potasio en la estabilidad del pan precocido almacenado en refrigeración, para su comercialización en supermercados. Universidad Técnica de Ambato–Ecuador
- Baldizón, C. G., Córdoba, M. E. M., & Valle, G. C. (2011). Evaluación de la vida útil de un producto mediante pruebas aceleradas por temperatura. *Revista Ingeniería*, 21(2), 31–38.
- Baranyi, J. and Roberts T.A. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*. 23: 277-294.
- Baranyi, J., & Tamplin, M. L. (2004). ComBase: a common database on microbial responses to food environments. *Journal of Food Protection*, 67(9), 1967–1971.
- CODEX, N. I. (2013). 192:2013. Norma General del Códex para los Aditivos Alimentarios.
- Corradini, M. G., & Peleg, M. (2007). Shelf-life estimation from accelerated storage data. *Trends in Food Science & Technology*, 18(1), 37–47.
- Flores Millingalle, J. M. (2010). Efecto de un conservante (Sorbato de potasio) y un mejorador (Carboximetilcelulosa) sobre las características sensoriales y en la vida de anaquel de las empanadas de viento (pasteles) elaboradas en la planta artesanal taty. Universidad Técnica de Ambato, Ambato - Ecuador
- Food Standards Agency (2021). Funded data generated at IFR. Records ID B002_209 to B002_214. Available from <https://www.combase.cc/index.php/en/> (Combined Database for Predictive Microbiology).
- INEN, I. (2013). Norma Técnica Ecuatorian NTE INEN. CODEX, 192, 2013.
- INEN, I. (2013). Norma Técnica Ecuatorian. NTE INEN 1529-10:98. Control Microbiológico de los Alimentos. Mohos y Levaduras Viables. Recuentos en Placa por Siembra en Profundidad.
- INEN, I. (2013). Norma Técnica Ecuatorian NTE INEN 1529-5:2006. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. Determinación de la Cantidad de Microorganismos Aerobios Mesófilos. REP.
- INEN, I. (2013). Norma Técnica Ecuatorian NTE INEN 1632:2012. Determinación de la Densidad Relativa a 27°C y de la Humedad.
- INEN, I. (2013). Norma Técnica Ecuatorian NTE INEN 0389. INEN 0389. Determinación de la Concentración del Ion Hidrógeno (pH).
- Lezcano, A. E. (2008). Galletitas y Bizcochos. *Alimentos Argentinos*, 41.

- López Jaramillo, M. (2018). *Formulación de un brownie de avena con enfoque saludable para personas que realizan actividad física*. Corporación Universitaria Lasallista.
- McMeekin, T., Olley, J., Ratkowsky, D., Corkrey, R., & Ross, T. (2013). Predictive microbiology theory and application: Is it all about rates? *Food Control*, 29(2), 290–299.
- Mizrahi, S. (2004). Accelerated shelf-life tests. *The Stability and Shelf-Life of Food*, 107–125.
- Norma Sanitaria Para La Fabricación, Elaboración Y Expendio De Productos De Panificación, Galletería Y Pastelería, N. S. (2010). *Elaboración y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería*: RM N 1020-2010/MINSA/Ministerio de Salud. Dirección General de Salud Ambiental–Lima: Ministerio de Salud.
- Yeom, K. H., Kim, J. H., Lee, J. H., Bae, I. H., & Chun, S. S. (2016). Quality characteristics and consumer acceptability of brownies with rice bran dietary fiber. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 45(12), 1823–1829.
- Zapata, E. L. R., Portales, R. E. D., Santillán, M. M., Becerra, A. L., & Vega, A. F. (2020). Cinética de crecimiento de un subrogado de Escherichia coli O157: H7. *Avances de Investigación en Inocuidad de Alimentos*, 3.