



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE α -AMILASAS Y MONOGLICÉRIDOS EN LA TEXTURA Y EN LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS EN PAN DE MOLDE.

**TESIS DE LICENCIATURA
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO EN ALIMENTOS**

PRESENTA:

JOSÉ CARLOS BONIFACIO FERRER

DIRECTOR DE TESIS:

Q. JESÚS CASTILLÓN JARDÓN

Toluca, México, Febrero de 2020



DEDICATORIA

A mis padres, gracias a ellos logre terminar mis estudios, siempre apoyándome y dándome esas fuerzas que tantas veces me hicieron falta cuando estuve a punto de renunciar, a ellos quienes tantas veces se quitaron un taco de la boca para que yo pudiera seguir estudiando, a los que nunca se cansaron de tan largas jornadas de trabajo con tal de verme cumplir mis sueños, los amo por siempre, sin ellos nada de esto hubiera sido posible.

Para mis hermanos, que siempre confiaron en que lo lograría, quienes soportaron siempre mis ausencias por estar atendiendo asuntos de la carrera, quienes siempre trataban de hacer mis noches de estudio más tranquilas, gracias por entenderme y estar a mi lado en este largo caminar.

A mi abuelita Agustina, yo sé que ella siempre quiso que fuera medico pero se sintió orgullosa de mi y aun cuando no pude cumplir su sueño de dar ese paseo en limosina antes de que partiera sé que desde donde esta tiene la sonrisa más bella por verme cumplir mi meta, te amo abuelita esta va para la estrella más brillante de todo el universo.

A Tere, el amor de mi vida, quien en todo momento estuvo a mi lado y a pesar de todo jamás se alejó, mi apoyo incondicional, mi confidente, mi luz en días de oscuridad.

A mi tía Guille, mi segunda mamá, la que nunca dudo que lo lograría y siempre se preocupó por mí.

A mi amiga Yenia Nava Proa la persona más feliz que pude haber conocido, quien siempre logro hacerme reír, mi amiga quien me tendió la mano en el peor momento de mi vida, ni todas las palabras del mundo alcanzan para expresar mi agradecimiento, este logro es tuyo amiga, aun que te fuiste de este mundo sin poder terminar la carrera te dedico este logro como un homenaje a tu memoria.

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis Q. Jesús Castellón Jardón por su asesoría y apoyo en el transcurso de la investigación.

A la Dra. Andrea Yazmin Guadarrama Lezama y el Dr. Juan Orozco Villafuerte por su asesoría y revisión del documento.

A todos aquellos que me dieron empleo ya que sin ellos jamás hubiera reunido los fondos necesarios para estudiar la Universidad, Sr. Santiago Pérez y su esposa la Sra. Yolanda, quienes por más de doce años me dieron trabajo en su taller.

Al Tec. Porfirio Cerezo y la Q.A Renata Yolotzin Gonzáles Domínguez quienes estuvieron durante el desarrollo de mis pruebas, aguantaron a pie de cañón por más de doce horas de trabajo, muchas gracias por su ayuda.

A todos mis compañeros de trabajo que con sus consejos y apoyo logre realizar mis pruebas de panificación, Ing. Mario Horta, Ing. Oscar, Ing. Samuel, Tec. Arturo Colín, Tec. José Antonio, Tec. Carlos, Tec. Mauricio, Tec. Celso, Tec. Oscar y mi buen amigo Ricardo.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	I
ÍNDICE DE TABLAS.....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS.....	V
ÍNDICE DE ANEXOS.....	VII
RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT.....	X
INTRODUCCIÓN.....	XI
1 MARCO TEÓRICO.....	2
1.1 Pan de molde.....	2
1.2 Historia del pan de molde.....	2
1.3 El pan de molde.....	3
1.4 Algunas cifras del desarrollo del pan.....	3
1.5 Envejecimiento del pan.....	3
1.6 Mejorantes en la industria de la panificación.....	5
1.7 Enzimas en la panificación.....	5
1.8 Evolución de las enzimas en la panadería.....	6
1.9 Las enzimas en los nuevos procesos de panificación.....	6
1.10 Factores que influyen en la acción de las enzimas.....	7
1.11 Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática.....	7
1.12 Efecto del pH sobre la actividad enzimática.....	8
1.13 Amilasas.....	8
1.13.2 La α -amilasa maltogénica.....	8
1.13.3 La α -amilasa de origen fúngico.....	8
1.14 Sinergia de enzimas.....	9
1.15 Monoglicéridos.....	10
1.16 Tecnología en la industria de la panificación.....	11
1.17 Equipo Mixolab.....	11
1.18 Comportamiento de la muestra en el par C1, a 30°C.....	12
1.19 Comportamiento de la muestra entre el par C1 y C2 (α) entre 30 y 50°C.....	13
1.20 Comportamiento de la muestra entre el par C2 y C3 (β) entre 55 y 60°C.....	13
1.21 Comportamiento de la muestra entre el par C3 y C4 (γ) a 90°C.....	13

1.22 Comportamiento de la muestra entre el par C4 y C5, de 90 a 50°C.....	14
1.23 Mixolab profiler.....	14
1.24 Índice de absorción.....	14
1.25 Índice de amasado.....	15
1.26 Fuerza de gluten.....	15
1.27 Índice de viscosidad.....	16
1.28 Índice amiláceo.....	16
1.29 Índice de retrogradación.....	16
1.30 Pruebas reológicas.....	17
1.31 Determinación de las propiedades texturales.....	19
2 JUSTIFICACIÓN.....	22
3 HIPÓTESIS.....	24
4 OBJETIVOS.....	26
4.1 Objetivo general.....	26
4.2 Objetivos específicos.....	26
5 METODOLOGÍA.....	28
5.1 Materiales y métodos.....	28
5.2 Diseño experimental.....	28
5.3 Tratamientos.....	28
5.4 Variables de estudio.....	28
5.5 Ingredientes.....	29
5.6 Caracterización de la harina y formulas de estudio	30
5.7 Elaboración de la masa para pan de caja.....	31
5.8 Volumen de la fermentación.....	32
5.9 pH de las masas y del pan.....	32
6.0 Acidez total titulable de las masas y del pan.....	32
6.1 Determinación de volumen y volumen específico.....	32
6.2 Determinación de %humedad.....	32
6.3 Determinación de la actividad de agua.....	32
6.4 Análisis de perfil de textura.....	32
6.5 Análisis estadístico.....	33
7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35

7.1 Caracterización de la harina y formulas de estudio utilizando el equipo Mixolab 2 en modo estándar.....	35
7.2 Caracterización de la harina y formulas de estudio utilizando el equipo Mixolab 2 en modo farino.....	38
7.3 Caracterización de la harina y formulas de estudio utilizando el equipo Alveograph PC.....	41
7.4 Pruebas de panificación.....	43
7.5 pH y acidez total titulable de las masas y del pan.....	45
7.6 Volumen específico del producto final.....	46
7.7 Actividad de agua (Aw) y porcentaje de humedad (%H).....	47
7.8 Análisis de perfil de textura.....	48
8 CONCLUSIONES.....	52
9 RECOMENDACIONES.....	54
10 REFERENCIAS.....	56
11 ANEXOS.....	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Descripción de los pares dados por el Mixolab.....	12
Tabla 2 Descripción de parámetros (α , β , γ) del Mixolab standard.....	12
Tabla 3. Requisitos para una calidad panadera específica	15
Tabla 4. Descripción de índices profiler.....	17
Tabla 5. Valor P (Alveógrafo).....	17
Tabla 6. Valor L (Alveógrafo).....	18
Tabla 7. Valor P/L (Alveógrafo).....	18
Tabla 8. Valor G (Alveógrafo).....	18
Tabla 9. Valor W (Alveógrafo).....	18
Tabla 10. Tratamientos y bloques del diseño experimental.....	28
Tabla 11. Aleatorización de las repeticiones.....	28
Tabla 12. Ingredientes formula (blanco).....	29
Tabla 13. Ingredientes formula de prueba enzima A.....	29
Tabla 14. Ingredientes formula de prueba enzima B.....	29
Tabla 15. Ingredientes formula de prueba enzima C.....	30
Tabla 16. Índices del Mixolab profiler obtenidos de la curva estándar para la caracterización fisicoquímica de la harina y de las fórmulas a probar.....	36
Tabla 17. Valores obtenidos de la curva simulador (modo farino) para la caracterización fisicoquímica de la harina y de las formulas a probar.....	40
Tabla 18. Valores obtenidos de la curva del Alveograph PC (hidratación constante) para la caracterización fisicoquímica de la harina y de las formulas a probar.....	44
Tabla 19. Parámetros de control de las 3 repeticiones de las pruebas de panificación...	44
Tabla 20. Valores obtenidos de pH y acidez total titulable del control y de las 3 repeticiones de las pruebas de panificación.....	45
Tabla 21. Valores obtenidos de peso y volumen específico del control y de las 3 repeticiones de las pruebas de panificación.....	46
Tabla 22. Valores obtenidos de la actividad de agua (A_w) y porcentaje de humedad (%H) del control y de las 3 repeticiones de las pruebas de panificación.....	47
Tabla 23: Valores obtenidos de firmeza (N) del control y de las 3 repeticiones de las pruebas de panificación.....	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Descripción grafica del Mixolab standar (CHOPIN +)	12
Figura 2. Alveograma.....	17
Figura 3. Farinograma.....	19
Figura 4. Gráfica general del análisis del perfil de textura.....	20
Figura 5. Diagrama general del proceso del equipo Mixolab para la caracterización fisicoquímica de la harina manitoba y las fórmulas de prueba.....	30
Figura 6. Diagrama general del proceso del equipo Alveograph PC para la caracterización fisicoquímica de la Harina manitoba y las fórmulas de prueba.....	31
Figura 7. Gráfico del Mixolab profiler de la harina manitoba.....	35
Figura 8. Gráfico del Mixolab profiler de enzima (A) 60 ppm.....	35
Figura 9. Gráfico del Mixolab profiler de enzima (B) 60 ppm.....	36
Figura 10. Gráfico del Mixolab profiler de enzima (C) 70 ppm.....	36
Figura 11. Gráfico del Mixolab simulador (modo farino) de la harina manitoba.....	39
Figura 12. Gráfico del Mixolab simulador (modo farino) de enzima (A) 60 ppm.....	39
Figura 13. Gráfico del Mixolab simulador (modo farino) de enzima (B) 60 ppm.....	39
Figura 14. Gráfico del Mixolab simulador (modo farino) de enzima (C) 70 ppm.....	40
Figura 15. Gráfico del Alveograph PC (hidratación constante) harina manitoba.....	41
Figura 16. Gráfico del Alveograph PC (hidratación constante) enzima (A) 60 ppm.....	41
Figura 17. Gráfico del Alveograph PC (hidratación constante) enzima (B) 70 ppm.....	42
Figura 18. Gráfico del Alveograph PC (hidratación constante) enzima (C) 70 ppm.....	42

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Imágenes fotográficas.....	61
--	-----------

RESUMEN

RESUMEN

Los productos de panificación han experimentado una mejora de calidad radical en los últimos 10 años. Sobre todo, en cuanto a sabor, textura y frescura. La introducción de enzimas en esta industria representa la máxima contribución sobre esta mejoría.

El presente trabajo muestra el análisis de tres formulaciones diferentes para la elaboración de pan de molde con diferentes concentraciones de monoglicéridos y α -amilasas, (60 ppm de enzima A + 0.30% de monoglicéridos), (60 ppm de enzima B + 0.30% de monoglicéridos), (70 ppm de enzima C + 0.30% de monoglicéridos), evaluando el efecto de estos ingredientes sobre las características del pan de molde.

Se caracterizó la harina utilizada para el estudio así como las tres formulaciones de prueba con ayuda de los equipos Mixolab 2.0 y Alveograph PC, a la masa se le midió el pH y la acidez total titulable al término de la fermentación. En el pan se midieron propiedades fisicoquímicas (pH, acidez total titulable, %H, Aw) a los 1, 7 y 15 días de almacenamiento, de igual manera se realizó el control del volumen específico del producto final. Se realizó un análisis de perfil de textura para medir la dureza de la miga del pan durante los mismos días de almacenamiento.

Los resultados de la caracterización arrojaron que las enzimas en combinación con los monoglicéridos, mejoran las propiedades fisicoquímicas de la misma, como son la absorción de agua, el tiempo de mezclado, la estabilidad, los índices de viscosidad, amilasas y retrogradación, la tenacidad y extensibilidad de la masa también presentaron mejoras significativas.

El pH y la acidez total titulable se mantuvieron estables a lo largo de su vida de anaquel, el Aw y %H sugieren que la aplicación de estos ingredientes funciona como agentes que retienen el agua de la miga por más tiempo contribuyendo a alargar la suavidad del pan. El volumen específico mostró diferencias significativas con respecto al control.

El perfil de textura reveló una disminución significativa en la firmeza de la miga, en todos los tratamientos con respecto al control, dicha firmeza se mantiene menor a través de los días en los tratamientos con enzimas a diferencia del control, siendo la enzima B la que presentó un menor aumento en dicha característica.

La aplicación de enzimas de origen fúngico contribuyen a la obtención de productos de panificación más frescos durante más tiempo y con mejores características fisicoquímicas, lo cual quedó demostrado ya que tanto las pruebas de panificación y las pruebas hechas por los equipos Mixolab y Alveograph PC sugieren diferencias significativas entre las tres pruebas con enzimas y el control, siendo el tratamiento con la enzima B el que arrojó mejores resultados en la mayoría de las pruebas hechas en esta investigación.

ABSTRACT

ABSTRACT

The bakery products have undergone a radical quality improvement in the last 10 years. Above all, in terms of taste, texture and freshness. The introduction of enzymes in this industry represents the maximum contribution on this improvement.

The present work shows the analysis of three different formulations for the production of bread with different concentrations of monoglycerides and α -amylases, (60 ppm of enzyme A + 0.30% of monoglycerides), (60 ppm of enzyme B + 0.30% of monoglycerides), (70 ppm of C + 0.30% enzyme of monoglycerides), evaluating the effect of these ingredients on the characteristics of bread.

The flour used for the study was characterized as well as the three test formulations with the help of the Mixolab 2.0 and Alveograph PC equipment, the pH and ATT were measured at the end of the fermentation. In the bread physicochemical properties (pH, ATT, % H, Aw) were measured at 1, 7 and 15 days of storage, in the same way the control of the specific volume of the final product was performed. A texture profile analysis (TPA) was performed to measure the hardness of the bread crumb during the same storage days.

The results of the characterization showed that the enzymes in combination with the monoglycerides, improve the physicochemical properties of the same, such as water absorption, mixing time, stability, viscosity indices, amylases and retrogradation, tenacity and Extensibility of the dough also presented significant improvements.

The pH and ATT remained stable throughout their shelf life, water activity and moisture percentage suggest that the application of these ingredients work as agents that retain the water of the crumb for a longer time contributing to lengthen the softness of bread. The specific volume showed significant differences with respect to the control.

The texture profile revealed a significant decrease in the firmness of the crumb, in all the treatments with respect to the control, said firmness is kept lower throughout the days in the treatments with enzymes unlike the control, being the enzyme B which it presents a smaller increase in this characteristic.

The application of enzymes of fungal origin contribute to obtaining fresher bakery products for a longer time and with better physicochemical characteristics, which has been demonstrated since both the baking tests and the tests made by the Mixolab and Alveograph PC teams suggest differences significant between the three tests with enzymes and the control, being the treatment with the enzyme B the one that yielded better results in the majority of the tests done in this study.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

El pan constituye la base de la alimentación desde hace 7000 u 8000 años (Bourgeois & Larpent, 1995). Al principio era una pasta plana, no fermentada, elaborada con una masa de granos machacados groseramente y cocida, muy probablemente sobre piedras planas calientes.

Parece que fue en Egipto donde apareció el primer pan fermentado, cuando se observó que la masa elaborada el día anterior producía burbujas de aire y aumentaba su volumen, y que, añadida a la masa de harina nueva, daba un pan más ligero y de mejor gusto.

Existen bajorrelieves egipcios (3000 años a. de J.C.) sobre la fabricación de pan y cerveza, que sugieren que fue en la civilización egipcia donde se utilizaron por primera vez los métodos bioquímicos de elaboración de estos alimentos fermentados (Aleixandre, 1996).

Hoy en día, la modernización en procesos relacionados con esta área, es el resultado de investigaciones realizadas en los últimos 60 años, marcados fuertemente por las tendencias del momento (Martínez, 2006).

La mecanización e industrialización de la panadería ha hecho imprescindible el empleo de ciertos aditivos: Oxidantes, como el ácido ascórbico, capaz de reforzar la red proteica de la masa; Emulsionantes, como el DATA, que proporcionan mayor tolerancia a la masa; Enzimas, que tienen cada vez más protagonismo, y que han sido una de las claves de los procesos modernos de panificación. El uso de una mezcla de estos tres principios activos es la base fundamental del mejorante completo que el panadero utiliza de una forma generalizada.

En los últimos años el uso de tecnología enzimática en alimentos ha crecido, y en el área de panificación también es ampliamente utilizada. En especial las amilasas, las cuales son utilizadas como agente antienviejecimiento, dando suavidad y textura a los productos panificados, alargando su vida útil (Cortez, 2004).

La adición de enzimas en productos de panificación ha sido estudiada como una alternativa para modificar la funcionalidad de las harinas y mejorar sus características panaderas (Sciarini, 2012).

Su uso y aplicación se ha extendido a diversos productos y procesos, como el tratamiento de harinas, elaboración e incremento de la vida de anaquel del pan (Tejero, 2009)

MARCO TEÓRICO

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Pan de molde

Se designa con el nombre de pan al «producto perecedero resultante de la cocción de una masa obtenida por la mezcla de harina de trigo, sal comestible y agua potable, fermentada por especies de microorganismos propias de la fermentación panaria como el *Saccharomyces cerevisiae*.

El pan de molde es seguramente uno de los tipos de panes más singulares de nuestros tiempos: es a la vez el producto de pan más estandarizado y extendido, pero también es uno de los más adaptables y disponibles en una gran variedad de formas.

El pan de molde es la masa elaborada con harina de trigo blanco o integral. Respecto al pan tradicional, la principal ventaja del pan de molde es su fácil masticación y que su período de conservación es muy superior al del pan común. Dentro de esta denominación podemos incluir distintos tipos de productos: pan blanco de molde, pan de molde integral, pan de leche, pan para hamburguesas.

Proporciona principalmente hidratos de carbono complejos (almidón). Su composición nutricional va a depender del grado de refinado de la harina utilizada para su preparación y del posible enriquecimiento o fortificaciones de la masa durante la elaboración.

La diferencia con el pan común, aparte de ser su textura, es que en el caso del pan de molde el contenido en grasa, proteínas y fibra es algo mayor que en el tradicional, aunque hay que tener en cuenta que ese contenido es muy variable según el tipo de pan que se consuma.

1.2 Historia del pan de molde

El pan de molde creció en popularidad en respuesta a los cánones propios de la era de la revolución industrial: estandarización y accesibilidad para todas las clases de la población, en todas las áreas del país. Se benefició del desarrollo de nuevas tecnologías, tales como el molino de rodillos en 1834, y la máquina para rebanar/revolver inventada por Otto Rohwedder en 1912.

Para la mayoría de los productos, los consumidores se adaptan a la oferta existente; sin embargo, el pan de molde se rige por las leyes del comercio y, por tanto, ha tenido que transformarse y adaptarse a la demanda del mercado.

Fue uno de los primeros alimentos en ser enriquecidos nutricionalmente; ya en 1941 se complementó con calcio para remediar el raquitismo durante la guerra. Más tarde con hierro, vitaminas B1 y B3 en los años 50, y nuevamente con fibra en la década de 1980.

Muy pronto, comenzó a incorporar agentes funcionales para garantizar una producción segura (agentes oxidantes, reductores, emulsionantes, enzimas, etc.), o satisfacer las necesidades del cliente (aumento de la vida útil, texturizantes para una mayor esponjosidad, aromas suaves para estandarizar los sabores o, por el contrario, para diversificarlos).

Más tarde fue testigo de la mecanización intensiva que surgió de la revolución provocada por el desarrollo del proceso de pan Chorleywood en 1961.

Gracias a esta nueva técnica, su consumo se extendió de la Commonwealth y más tarde en Asia y en la Europa de posguerra.

Sus notables propiedades de conservación (baja sensibilidad a las variaciones de temperatura y humedad) lo convirtieron en un producto particularmente codiciado por el snacking.

Por último, el pan de molde se produce integrando las preferencias regionales (azúcar, grasa, leche, alta esponjosidad, Yugon en Japón)

1.3 El pan de molde

Considerado un producto de convivencia en los países anglosajones con un bajo contenido de azúcar (2-5%) y grasa (0-5%), se ha convertido en un producto de lujo en Asia donde los invitados a un evento pueden llevar como regalo una bolsa de 3/5 rebanadas, con unos niveles de azúcar hasta un 25% y una mayor cantidad de grasa.

Tanto en su fabricación como en la forma de consumo se pueden observar muchas variantes:

A base de harina de trigo (blanca o integral), con o sin colorantes: extracto de té verde (matcha) para lograr el color verde tan popular en Asia, tinta de calamar, el carbón de bambú para hacerlo negro.

Hecho usando el método de pre-fermentación (esponja) o el método directo, cocido en molde cerrado o abierto (generalmente de forma rectangular, pero a veces de formas más originales o moldes con formas de animales), con o sin corteza, o cocido en un horno convencional, de vapor/microondas, etc.

Consumido natural o tostado, cortado en diferentes formas, horneado con mantequilla de ajo, o convertido en pudín de pan para el postre, etc.

1.4 Algunas cifras del desarrollo del pan de molde

Según el país, los datos sobre el desarrollo de este tipo de pan son variables y diversos, tanto en relación con el valor como el volumen. Los países maduros, como Inglaterra, han registrado un descenso en el valor del 6 al 10% en los últimos años y del 3 al 6% anual en volumen, mientras que en Oriente Medio experimenta un crecimiento de dos cifras. Sin embargo, una cosa es cierta: su consumo está creciendo en términos globales y reemplazando otras formas tradicionales de pan (la disponibilidad y la vida útil son las principales razones), teniendo en cuenta también los cambios que se están produciendo en el consumo de pan en todo el mundo (aumento de la población, nuevos hábitos de consumo, ascenso de las clases medias, etc.).

1.5 Envejecimiento del pan

Los productos de panadería, y, por lo tanto, el pan de molde, son una parte importante de una dieta equilibrada y, hoy por hoy, podemos encontrar una amplia variedad de estos productos en los supermercados. Sin embargo, al igual que muchos otros alimentos procesados, están sujetos al deterioro.

Un aspecto diferencial entre el pan tradicional y el pan de molde es que a éste se le añade grasa para conferirle sus especiales características organolépticas, incrementando su rendimiento energético (274 kcal/100 g). Este hecho, junto con otros factores internos y externos interrelacionados, tales como temperatura de almacenamiento, humedad relativa, cantidad de conservantes, pH, material de envasado y, las más importantes, el contenido en humedad del orden de 38% (Tejero, 2011), y la actividad de agua (A_w), tienen como consecuencia negativa el deterioro de

este producto, el cual puede ser físico (endurecimiento), químico (enranciamiento) y/o microbiológico (mohos) (Smith et al., 2004).

Aunque ha sido estudiado durante más de siglo y medio, el endurecimiento del pan no ha sido eliminado y sigue siendo el responsable de inmensas pérdidas tanto para la industria panificadora como para el consumidor. El indicador de endurecimiento más ampliamente utilizado es la medida del aumento en la firmeza de la miga, pues se trata del atributo más fácilmente reconocible por el consumidor.

El pan es una “espuma” inestable, elástica y sólida, cuya parte sólida es una fase continua compuesta en parte por una red elástica de moléculas reticuladas de gluten y por moléculas de polímeros de almidón, principalmente amilosa, junto con moléculas lipídicas polares, y una fase discontinua de gránulos de almidón atrapados, gelatinizados, hinchados y deformados (Gray & Bemiller, 2003).

Ni el sistema del pan ni el proceso de endurecimiento se entiende bien a nivel molecular. Incluso una simple formulación de la masa del pan contiene varios ingredientes, los cuales pueden contener a su vez varios componentes, los cuales pueden padecer cambios durante el proceso de panificación y durante el envejecimiento del producto final. Así como el pan es un sistema complejo y heterogéneo, el fenómeno de endurecimiento parece ser complejo también, pues la investigación de las hipótesis de los cambios en 1 o 2 componentes no ha conseguido explicar totalmente el proceso

Después del enfriamiento, el bajo contenido de agua de la corteza (3-7%) es suficiente para la transición de los componentes plásticos del pan al estado vítreo; en consecuencia, se da una dureza estructural responsable de la apariencia crocante de la corteza del pan. En cambio, el alto contenido de agua de la miga (30-40%) es responsable de la característica plástica (suave), al cual da movilidad estructural y explica la sensibilidad a la retrogradación del almidón durante el almacenamiento (Cuq & Guilbert, 2003).

El mecanismo de endurecimiento del pan se puede clasificar en 2 fases (Schiraldi & Fessas, 2001): endurecimiento de la corteza y endurecimiento de la miga. El de la corteza es producido generalmente por la transferencia de la humedad desde la miga a la corteza resultando en una corteza blanda y textura dura y correosa y es generalmente menos censurable que el endurecimiento de la miga; en el envejecimiento de la miga, siendo esta más compleja, que se explica químicamente con las interacciones de los componentes del almidón: la pérdida de agua de las cadenas lineales de la amilopectina que hace que se cristalice y por tanto sea más rígida, lo cual ocasiona que haya mayor firmeza en la miga (Gray & Bemiller, 2003).

Numerosos investigadores centraron sus estudios en este aspecto, obteniendo resultados dispares; se sabe que es un complejo fenómeno en el cual operan múltiples mecanismos. La cristalización de los polímeros con la formación de estructuras supermoleculares está ciertamente involucrada.

La hipótesis más plausible es que se da una retrogradación de la amilopectina, y, debido a que las moléculas de agua se incorporan dentro de los microcristales, la distribución del agua se desplaza desde el gluten al almidón/amilopectina, cambiando de este modo la naturaleza de la red de gluten (Gray & Bemiller, 2003).

Katz (1928) planteó la hipótesis de que un cambio gradual en los componentes del almidón de su forma amorfa a su forma cristalina era importante en el proceso de

endurecimiento, y por tanto la retrogradación de los polímeros de almidón era la responsable del endurecimiento.

Hellman et al., (1954) ofrecieron pruebas de que la tasa de evolución de la cristalización en geles de almidón era similar a la tasa de endurecimiento del pan; sin embargo, (Dragsdorf & Varriano-Marston, 1980) obtuvieron evidencias de que el grado de cristalización de la miga de pan estaba inversamente relacionada con su firmeza y, por tanto, concluyeron que la cristalización del almidón y el endurecimiento eran procesos separados.

Por otro lado, la formación de complejos entre los polímeros de almidón, los lípidos y las proteínas de la harina se cree que inhibe la agregación de la amilosa y la amilopectina (Kulp, 1979). De esta manera, el contenido en estos componentes podría influir la tasa de endurecimiento.

En el pan fresco, el polímero ramificado tiene todas sus ramas completamente extendidas, mientras que en el pan duro están retrogradadas, unidas entre sí y sin el agua original (Badui, 2013).

1.6 Mejorantes en la industria de la panificación

Son agentes que se añaden en pequeñas cantidades como ingredientes del pan, con la intención de mejorar las características iniciales de la harina, referidas fundamentalmente al color, contenido en enzimas y características plásticas de la masa.

En la industria de la panificación se han realizado diversos estudios con el fin de mejorar la textura (uniformidad de la miga, suavidad y menos resequedad) y alargar vida anaquel (Farkhretdinov, 2007).

El avance de los nuevos procesos de panificación, los cambios significativos de la calidad de la harina, sobre todo en lo referido a la actividad enzimática, la implantación del pan precocido, y el uso generalizado en la panadería artesanal de técnicas de frío como las masas refrigeradas, la fermentación controlada y las masas de bollería congeladas, han hecho que los mejorantes comerciales hayan cambiado en su composición, dosificación y actividad.

Las distintas reglamentaciones técnico-sanitarias europeas de aplicación en panadería establecen una dosificación máxima límite de 20 g por cada 100 kg de harina. La dosis óptima estará en función del tipo de pan a elaborar, del grado de mecanización, de la calidad de la harina y del tipo de amasadora y, en los últimos años, de la incorporación a los mejorantes panarios de nuevas enzimas.

Esta mezcla de principios activos proporciona una gran expansión del pan en el horno. Cuando la subida del pan en la fase de cocción es exagerada se corre el riesgo de que el pan se arrugue durante el enfriamiento. Por tanto, hay que moderar el uso de dichos mejorantes, consiguiendo el volumen durante la fermentación y no por la expansión del pan en el formado.

1.7 Enzimas en la panificación

La tecnología enzimática consiste en encontrar enzimas con características específicas, para aislarlas y producirlas económicamente y utilizarlas con la mayor ventaja. Desde siempre el hombre ha usado enzimas, sin un conocimiento exacto de qué eran y cómo actuaban. La industria produce las enzimas como lo hace la naturaleza. Todos los hongos, levaduras y bacterias contienen gran cantidad de enzimas. Se obtienen por

ejemplo a partir de hongos que se pueden encontrar en la naturaleza o de bacterias *Bacillus subtilis*. Las enzimas, por lo tanto, no son microorganismos, sino que proceden de aquellos.

Las cepas seleccionadas son cultivadas en condiciones controladas o bien en medios de cultivo de gran superficie, incluso en tanques de fermentación. Después de una profunda purificación y tratamiento se mantienen en forma líquida, o bien se liofilizan en el caso de que vayan a ser utilizadas en el tratamiento de la harina o para los mejorantes en polvo para panificación (Tejero, 2009).

1.8 Evolución de las enzimas en la panadería

El comienzo del uso de las enzimas en la molinería y panadería es a partir del año 1850, cuando a los panaderos y molineros les va llegando información de que la harina de malta daba color al pan. Entonces la miga era más húmeda y se conservaba más tiempo por lo que la alfa amilasa de la malta de la cebada aumentaba la fermentación con la generación de azúcares fermentables (maltosa) a partir del almidón. Más tarde se descubrió que la enzima activa de la soja blanqueaba la miga y mejoraba la firmeza del gluten a través de la acción de la lipoxigenasa.

Un siglo después se descubre que los hongos y bacterias son fuentes de enzimas alimenticias. La amilasa fúngica se empieza a utilizar reemplazando a la harina de malta ya que en ella no era controlable su actividad y porque la harina no siempre tiene el mismo contenido enzimático, ya que esto depende de la humedad del trigo. El principal avance con la utilización de la amilasa fúngica fue la facilidad de regulación de la dosificación de la enzima y de la temperatura: las de la harina de malta prolongan su efectividad en el horno hasta que en el interior de la miga se alcanzan los 75° C, mientras que tras el nuevo descubrimiento de las amilasas fúngicas se comprueba que su actividad se corta a los 60° C.

La amilasa bacteriana que empezó a utilizarse en las masas fermentadas mostró que la miga era aún más húmeda y que conservaba más tiempo el pan fresco, pero una sobre dosificación de amilasa bacteriana producía una miga excesivamente húmeda, lo que ya no era deseable.

La concentración natural de estas enzimas en los cereales panificables depende en gran medida de las condiciones climatológicas durante las últimas fases del cultivo del trigo. Si madurado el grano, éste estuvo expuesto a un ambiente húmedo, se producirá su germinación. Si por el contrario, la maduración y recolección del trigo se realizó en clima seco, el contenido de enzimas podría llegar a ser insuficiente. Por esta razón y para resolver esta insuficiencia enzimática es necesario añadirlas a la harina o a la masa.

1.9 Las enzimas en los nuevos procesos de panificación

En panificación para que las enzimas generen su actuación necesitan que la harina esté hidratada. Comienzan a actuar durante el amasado, facilitando el trabajo, regulando la absorción del agua y asegurando la obtención de una masa más fina, extensible y la puesta a punto para su mecanización.

Es durante la fermentación de la masa cuando la acción enzimática resulta más notable, proporcionando alimento a la levadura para que gasifique y levante la masa.

En la cocción, y hasta el momento en que por las altas temperaturas se desactivan, las enzimas actúan a una mayor velocidad de transformación.

Será durante esta fase de cocción cuando se fija el volumen, la greña, el color de conservación, el alveolado de la miga y la blancura de la misma. Los efectos que se pueden obtener en la masa por la aplicación de las enzimas son los siguientes:

Reducir el tiempo de amasado.

Generar azúcares para la fermentación.

Aumentar o disminuir la extensibilidad de la masa por las oxidasas o proteasas.

Aumentar la fuerza de la masa.

Ajustar el equilibrio de la masa.

Reducir la viscosidad de la masa.

Mejorar la conservación.

1.10 Factores que influyen en la acción de las enzimas

La cantidad de una enzima añadida a la harina reaccionará de forma distinta dependiendo de varios factores. Este hecho va a generar dudas al panadero, porque el comportamiento de las masas será muy distinto dependiendo de la cantidad de mejorante añadido, ya que es en este dónde normalmente el panadero adiciona las enzimas a su pan; a través de un conjunto enzimático, que incorpora generalmente también ácido ascórbico y algún tipo de emulsionante. Por ello, otros factores como la acidez de las masas madres, la temperatura de la masa y de la fermentación, así como la temperatura del horno, tendrán una repercusión de reacciones bien distintas cuando estos parámetros cambien.

1.11 Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática

En general, los aumentos de temperatura aceleran las reacciones químicas y enzimáticas: por cada 10° C de incremento, la velocidad de reacción se duplica. Las reacciones catalizadas por enzimas siguen esta ley general.

Sin embargo, al ser proteínas, a partir de cierta temperatura, se empiezan a desnaturalizar por el calor. La temperatura a la cual la actividad catalítica es máxima se llama temperatura óptima. Por encima de esta temperatura, el aumento de velocidad de la reacción debido a la temperatura es contrarrestado por la pérdida de actividad catalítica debida a la desnaturalización térmica, y la actividad enzimática decrece rápidamente hasta anularse.

Las enzimas que se utilizan en la panadería comienzan su actividad desde que sea añado agua en el amasado y terminan en el horno, si por ejemplo la masa sale de la amasadora por debajo de 25°C su actividad es bien diferente a si la masa queda caliente, otro ejemplo es cuando la masa se fermenta a altas temperaturas; si por el contrario es muy fría o también si la temperatura inicial del horno es baja o al contrario muy alta, se va a prolongar o reducir la actividad de las enzimas. Normalmente las enzimas que se utilizan en la harina y las que el panadero aporta a través del mejorante se desnaturalizan y se desactivan en entre los 60-70° C.

También las enzimas añadidas a las masas de fermentación controlada, aún con actividad reducida debido a la baja temperatura, siguen activas, y tendrán tal repercusión que si bien se paraliza la actividad fermentativa de la levadura, prosigue lentamente la degradación del gluten y del almidón. La repercusión es que a mayor

tiempo de fermentación baja la fuerza de la masa y el colorido y la cristalización del pan una vez cocido aumenta (Tejero, 2009).

1.12 Efecto del pH sobre la actividad enzimática

El pH es una medida de la acidez relativa de la masa. La acidez en la que la actividad de las enzimas es óptima, en procesos con fermentaciones cortas, se obtiene difícilmente cuando no se añade una porción de masa madre. Los aminoácidos que forman las proteínas pueden estar cargados positivamente o negativamente dependiendo del pH de la masa. A pH neutro (pH=7), la mayor parte de las proteínas tienen en ambos signos positivo y negativo cargas disponibles a lo largo la cadena de aminoácido. Cargas opuestas se atraen y cargas iguales se repelen. Ésta fuerza de atracción/repulsión juega un papel importante en el sostén de toda la estructura de tridimensional de la proteína, la cual es importante para su funcionalidad. Como la conformación de las proteínas depende, en parte, de sus cargas eléctricas, habrá un pH en el cual la conformación será la más adecuada para la actividad catalítica. Éste es el llamado pH óptimo.

La mayoría de las enzimas son muy sensibles a los cambios de pH. Desviaciones de pocas décimas por encima o por debajo del pH óptimo pueden afectar drásticamente su actividad (Tejero, 2009).

1.13 Amilasas

En la industria alimentaria, α -amilasas son ampliamente utilizadas en diversas áreas como lo es en la producción de cerveza, bebidas destiladas, jarabes, jugos, pasteles y productos panificados, entre otros ejemplos. Esta industria invierte grandes cantidades de dinero cada año en la producción de alimentos de “etiqueta limpia” debido a las demandas de los consumidores actuales, quienes demandan cada vez mejores alimentos y libres de aditivos químicos que podrían afectar su salud (Sánchez et al., 2016).

Las α -amilasas pueden obtenerse a partir de cereales, hongos (fúngicas) o bacterias.

1.13.2 La α -amilasa maltogénica

Los avances en la biotecnología han traído enzimas como la alfa-amilasa maltogénica que mejora sustancialmente el efecto antienviejecimiento en comparación con las amilasas tradicionales. Retarda la retrogradación del almidón, y así mantiene la elasticidad de la miga y prolonga su suavidad durante el almacenamiento.

El mecanismo exacto de acción de la maltogénica no está completamente esclarecido, pero hay una hipótesis de que las maltodextrinas y maltosas producidas inhiben o interfieren en los enlaces cruzados entre las fibras proteicas y los gránulos de almidón, retardando el inicio del envejecimiento.

La alfa amilasa maltogénica tiene su termoestabilidad entre la alfa-amilasa fúngica y bacteriana. Por lo tanto, es capaz de hidrolizar los enlaces glucosídicos durante la gelatinización del almidón durante la cocción, pero no lo degrada excesivamente, ya que se inactiva durante la etapa posterior de la cocción (Roepcke & Toledo, 2013).

1.13.3 La α -amilasa de origen fúngico

Se produce por fermentación de una cepa de hongo *Aspergillus niger*, y es la más utilizada en la fabricación del pan, como alternativa a la harina de malta. Ello es debido al hecho, entre otros, de que la α -amilasa fúngica tiene una mayor tolerancia a la sobre

dosificación que la de origen cereal, lo que se basa en su desactivación durante la primera fase de la cocción (60-65° C); con ella que no existe el riesgo de que se produzca exceso de dextrinas, lo cual produciría migas pegajosas.

Las amilasas, como todas las enzimas, se inactivan con el incremento de temperatura que se produce al entrar al horno: son proteínas y, por tanto, termolábiles. Las amilasas fúngicas se inactivan a temperaturas en torno a los 60° C, mientras que las naturales del trigo lo hacen por encima de los 75° C.

Una vez que es agregada la enzima α -amilasa, se cataliza la adición de una molécula de agua a cada enlace glicosídico, rompiendo así las cadenas de amilosa y amilopectina siendo así el efecto principal de las amilasas sobre la masa el aumento de la velocidad de fermentación, facilitada por la mayor producción de gas y por el ligero reblandecimiento de la masa producido por la liberación del agua absorbida por los gránulos de almidón atacados. Una dosificación excesiva de amilasas se traduce en masas pegajosas de difícil manipulación (Tejero, 2009).

1.14 Sinergia de enzimas

La acción en la masa y las características del pan de dos o más enzimas añadidas en conjunto es frecuentemente mayor que la suma de los efectos de cada enzima por sí sola, produciendo un interesante sinergismo. El mismo sinergismo es observado en el uso de las enzimas además de otros aditivos, tales como ácido ascórbico y los emulsionantes. Las industrias de fabricación de enzimas se esfuerzan en preparar diferentes complejos enzimáticos capaces de cubrir por sinergismo la carencia de una enzima para suplantarla con otra enzima añadida. Los procesos tan variados y la gran cantidad de panes que fabrica la panadería actual hace que estas combinaciones de procesos enzimáticos se vayan especializando en función de las variedades de panes a los que van dirigidos y al grado de automatismo que requiera la masa, una mayor o menor fuerza o equilibrio (Tejero, 2009).

Las propiedades y aplicaciones de las enzimas que se encargan de hidrolizar el almidón de la familia de las α -amilasas, misma que comprende un grupo de enzimas de diferentes especificidades, que actúan sobre un tipo de sustrato, siendo residuos de glucosa unidos a través de un enlace glucosídico α , 1-1, α -1-4, o α -1-6. Los miembros de esta familia comparten una serie de características comunes, encontrándose al menos 21 enzimas con diferentes especificidades dentro de este grupo; estas diferencias se consideran entre otras características, el sitio activo y la estructura general de la enzima. La α -amilasa puede dividirse en dos subgrupos: las enzimas hidrolizantes y modificadoras de almidón.

Uno de los principales usos de este tipo de enzimas es como agente anti-envejecimiento en productos de panadería, al retardar la retrogradación del almidón.

Diversos estudios (Caballero, 2006; Patel, 2012) han evaluado los efectos tanto individuales como sinérgicos de diversas enzimas sobre la red del gluten y su interacción con el almidón, encontrando resultados positivos sobre la reducción del envejecimiento del pan.

(Moore et al., 2006) demostraron que la incorporación de la enzima α -amilasa en la harina favorece la formación de una red continua capaz de mejorar la calidad tecnológica del pan y su disminución en la velocidad de endurecimiento de la miga durante su almacenamiento.

Esta enzima hidroliza los enlaces α -(1-4) del almidón, produciendo dextrinas de bajo peso molecular. Su efecto positivo sobre la calidad del pan se debe a que incrementa el contenido de azúcares fermentables y reductores (Bowles, 1996). Los azúcares fermentables sirven de nutrientes para las levaduras aumentando la producción de CO₂, lo que implica un aumento en el volumen del pan; los azúcares reductores por su parte promueven la generación de los productos de la reacción de Maillard intensificando el sabor, el aroma y el color del pan (Drapron & Godon, 1987; Bowles, 1996).

Por otro lado, la acción de las amilasas que causan modificaciones en la estructura del almidón altera sus propiedades de reagrupamiento, ya que las dextrinas producidas por la hidrólisis enzimática dificultan la reorganización de las moléculas de amilopectina durante el almacenamiento, evitando la retrogradación (León et al., 2002; Defloor & Delcour, 2012; Durán et al., 2001).

1.15 Monoglicéridos

Los monodiglicéridos, son grasas sintéticas producidas a partir de glicerol y ácidos grasos similares a las grasas naturales, actúan como emulsificantes y estabilizadores de alimentos (Codex Alimentarius).

Debido a la estructura particular de sus moléculas, compuestas de una parte hidrófila y otra lipófila, forman una película resistente en la superficie de las gotitas dispersas, evitando su combinación; de esta forma los sirven de unión entre las dos fases de la emulsión.

Los diferentes emulsionantes autorizados en la fabricación del pan, de modo simplificado y para caracterizar el comportamiento de cada uno de ellos, suelen diferenciarse en dos grandes categorías: acondicionadores de masa y ablandadores de la miga.

Los ablandadores de miga son utilizados sobre todo en los panes de molde y, en general, en los panes y la bollería de corteza suave y de larga conservación, proporcionan fuerza, tolerancia, volumen, flexibilidad y esponjamiento en la miga y suavidad en la corteza; en resumen, aumento de vida en los panes y la bollería.

Los emulsionantes denominados reforzadores del gluten, actúan sobre el gluten que se encuentra del orden del 6 al 8% en la masa, aumentando la fuerza de la misma, lo que conlleva no solamente facilitar la mecanización, laminado y enrollado, sino también el aumento de tolerancia, volumen y desarrollo en el horno.

La adición de monoglicéridos produce un efecto anti envejecimiento significativo y se han propuesto varios mecanismos para explicar su acción. (Willhoft, 1973) sugirió que su efecto anti envejecimiento de los monoglicéridos puede deberse a una interacción con el gluten lo cual ha sido confirmado por otros investigadores. Por otro lado se sabe que son atrapados por el gluten durante el amasado y liberados hacia el gel del almidón durante el horneado. Es probable que permanezcan principalmente en las regiones inter-granulares, donde pueden formar complejos con la amilosa lixiviada o con la amilopectina. Esto puede impedir la formación de puentes entre gránulos de almidón hinchados y, consecuentemente evitar la retrogradación (Conde-Petit & Escher, 1994).

Facilitan la interacción de los lípidos con las proteínas y el almidón. Las ventajas más reconocidas de su uso son el incremento del volumen de pan y el mejoramiento de la textura de la miga. También se les asigna la formación de complejos insolubles con la amilosa retardando así la capacidad de envejecimiento del pan (Beltrán-Orozco et al., 2007; Sluimer, 2005; Campbell et al., 2001; Ravi et al., 2000).

1.16 Tecnología en la industria de la panificación

La harina de trigo ha sido parte importante de la alimentación desde el inicio de las civilizaciones. A través del tiempo se han desarrollado nuevos métodos y equipos que permiten obtener de manera más práctica datos útiles del comportamiento durante el proceso de panificación.

En la actualidad, los consumidores están en la búsqueda constante de nuevos productos y, al mismo tiempo de alimentos más sanos. Estas demandas han llevado a la industria del trigo/harina/pan a desarrollar nuevas estrategias para ofrecer al mercado productos de cereales innovadores, saludables y asequibles. Es importante remarcar que, aunque los principios no hayan cambiado durante siglos, la forma de producir pan ha cambiado significativamente en las últimas décadas.

La demanda del control de calidad también ha experimentado la misma evolución. El uso de nuevos procesos, nuevos ingredientes y enzimas ha exigido equipos de control de calidad nuevos o mejorados. Estos se utilizan en el área de investigación y desarrollo para crear nuevos productos o en el laboratorio de control de calidad para garantizar que la materia prima en el producto final cumpla con los requisitos del usuario (Dubat et al., 2013).

La industria actual ha dejado ver a la calidad como una ventaja competitiva, convirtiéndose esta en característica inherente a cualquier producto y requisito para permanecer en el mercado (Lorraine, 2005).

1.17 Equipo Mixolab

El Mixolab es un equipo diseñado para el control de calidad de harinas y el comportamiento de la masa en un proceso de fabricación. Se basa en someter a ciclos de calentamiento/enfriamiento para simular el desarrollo de la masa en un proceso tradicional o industrializado de elaboración de pan con el fin de conocer las propiedades reológicas. Sus inicios se remontan a principios de la década de 1900 por un molinero en los Países Bajos, el cual creó un instrumento para apreciar la consistencia de la masa con el paso del tiempo y un incremento gradual de la temperatura. Dicho instrumento fue evolucionando hasta que, en el año 2000, se creó el Multigrapher, fue perfeccionado y rediseñado por CHOPIN Technologies, quienes en 2004 introdujeron al mercado la última versión llamada Mixolab (Dubat, 2013).

El Mixolab ofrece una funcionalidad mejorada sobre equipos ya existentes en el mercado puede, en una sola prueba, determinar la capacidad de absorción de agua, la estabilidad al mezclado, temperatura y picos de gelatinización, actividad amilácea y la retrogradación del almidón. El Mixolab también puede ser utilizado para la evaluación de la funcionalidad de ingredientes y para investigar los efectos de aditivos para panificación.

Durante el análisis típico de una muestra en el Mixolab Standard, se observan cinco fases en la curva Mixolab. Las fases y los parámetros que miden se aprecian en la Fig.1, donde la curva color verde representa el par registrado por el sensor en Nm, la curva roja muestra la temperatura de la mezcladora en °C, la curva rosa la temperatura de la masa igualmente en °C y finalmente la línea horizontal de color morada muestra la consistencia deseada (1.1 Nm) la cual se debe lograr durante la determinación de la hidratación. El par registrado durante la fase 1 debe ser igual a 1.10 ± 0.07 Nm (línea punteada horizontal) para poder comparar las pruebas (Dubat, 2013).

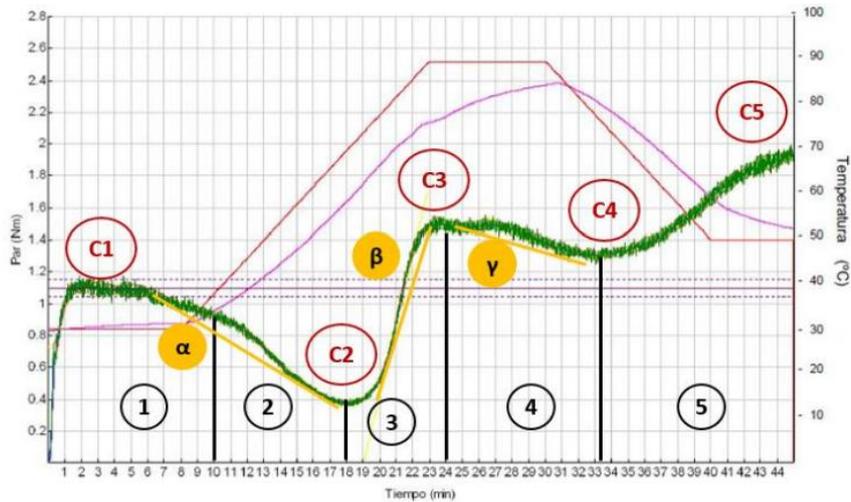


Fig. 1. Descripción grafica del Mixolab standar (CHOPIN +).

Tabla 1. Descripción de los pares dados por el Mixolab (CHOPIN Technologies, 2016)

Par	Descripción
C1	Absorción de agua.
C2	Debilitamiento de la proteína en función de la temperatura y el esfuerzo mecánico.
C3	Gelatinización del almidón.
C4	Estabilidad del gel durante el calentamiento.
C5	Retrogradación del almidón en la fase de enfriamiento.

Tabla 2. Descripción de parámetros (α , β , γ) del Mixolab standar (CHOPIN Technologies, 2016)

Parametro	Descripción
α	Velocidad de debilitamiento de la proteína bajo el efecto del calentamiento.
β	Velocidad de gelatinización del almidón.
γ	Velocidad de la degradación de la enzima.

1.18 Comportamiento de la muestra en el par C1, a 30°C

El comportamiento de las masas (tiempo de realización de la masa, estabilidad, etc.) depende de las capacidades de aglomeración de las proteínas y, por lo tanto, de su contenido en gluteínas (elasticidad) y gliadinas (extensibilidad). A 30°C y bajo el efecto del amasado, las proteínas se aglomeran en superestructuras proteicas (GMP-Gluten Macro Polymer). El índice de GMP aumenta. La red de gluten se desarrolla, lo que se traduce en un aumento rápido del par hasta C1 (CHOPIN Technologies, 2016). Al mismo tiempo, la proporción de proteínas solubles (de bajo peso molecular) disminuye. Éstas se aglomeran con las fracciones de más alto peso molecular, este conjunto formará la red proteica apta para guardar el CO₂ producido durante la fermentación.

1.19 Comportamiento de la muestra entre el par C1 y C2 (α) entre 30 y 50°C.

Entre C1 y C2, la red proteica se encuentra muy dispersa, pero continúa concentrándose en forma de aglomerantes. En esos momentos, el almidón no se gelatiniza (presencia de la cruz de malta). Se pueden identificar dos tipos de almidón: el tipo "A" con gránulos gruesos, y el tipo "B" con gránulos pequeños. Entre C1 y C2, los gránulos se "inflan" debido al aumento de temperatura. La matriz proteica, muy bien repartida alrededor de los gránulos de C1 tiende a aglomerarse en C2 y rodea menos gránulos de almidón, lo que corresponde a la disminución del par registrado por el Mixolab.

La aglomeración de las proteínas se acelera hasta aproximadamente 45-50°C gracias a la activación gradual de los enlaces débiles (hidrógeno, iónico). Esto contribuye al reforzamiento de la red de gluten. (CHOPIN Technologies, 2016)

Esto corresponde a la fase de puesta en el horno: la producción de gas se acelera (ampliación de la fase acuosa en la fase gaseosa, actividad de las amilasas más fuertes), la red de gluten se deforma, el volumen aumenta. La red proteica aún sigue bastante dispersada para ofrecer una película capaz de retener el gas (CHOPIN Technologies, 2016)

1.20 Comportamiento de la muestra entre el par C2 y C3 (β) entre 55 y 60°C

Entre C2 y C3, los gránulos de almidón se deforman considerablemente. Comienza el fenómeno de gelatinización, lo que se traduce en un aumento importante y rápido de la viscosidad, y por tanto del par registrado por el Mixolab. La temperatura de gelatinización es más baja para los almidones B. En efecto, los gránulos más pequeños (tipo B) se gelatinizan completamente, mientras que los más grandes (tipo A) aún permanecen visibles en esta fase. La proporción A/B influye en la cinética de gelatinización (β). De forma general, un trigo con una calidad superior de almidón y/o una actividad amilácea más baja tendrá un C3 más elevado.

También es importante mencionar que en esta fase la matriz proteica es menos continua. Probablemente exista un alargamiento del agua del almidón hacia las proteínas (CHOPIN Technologies, 2016).

1.21 Comportamiento de la muestra entre el par C3 y C4 (γ) a 90°C

Entre 55 y 90°C, las proteínas siguen aglomerándose. Los aglomerados no desaparecen, pero son bastante menos reactivos. A partir de 55°C, el gluten pierde la capacidad de crear enlaces internos cuando la masa queda en reposo. Esto ilustra perfectamente la desnaturalización de las proteínas que dejan de formar un enlace continuo. Más allá de 50°C, los puentes S-S se rompen, lo que puede explicar la disminución de la cantidad de GMP (CHOPIN Technologies, 2016).

A partir de esas temperaturas, la estructura depende de la parte de almidón. Por lo tanto, el par medido procede esencialmente del almidón gelatinizado. Entre C3 y C4, la gelatinización del almidón llega a ser completa. Los gránulos están muy deformados y ocupan la mayor parte de la estructura. Se forman aglomerados almidón/proteína. Cuanto mayor sea la diferencia C3-C4, mayor es la licuefacción/actividad amilácea. La gelatinización del almidón es importante para fijar la estructura de la miga. La cual depende de la proporción amilosa/amilopectina.

Unas medidas muy bajas de C3, C4 y C5 para la panificación deben llevar lógicamente a la producción de panes de poco volumen con una miga pegajosa. Se ha demostrado que los trigos de muy bajo contenido en amilosa producían panes con una miga blanda y pegajosa. Esos mismos trigos analizados en el Mixolab tienen C3, C4 y C5 considerablemente bajos (CHOPIN Technologies, 2016).

1.22 Comportamiento de la muestra entre el par C4 y C5, de 90 a 50°C

La recristalización de la amilopeptina es el parámetro más importante que explica la retrogradación. No obstante, la amilólisis, que retrograda en los primeros momentos (fantasmas), predice el comportamiento futuro de la amilopeptina. Durante el análisis Mixolab, la reaparición de los “fantasmas” entre C4 y C5 demuestra que esta fase corresponde perfectamente a la retrogradación de la amilosa. Los gránulos se componen principalmente de almidón, y la proteína viene a llenar los intersticios. El análisis con microscopio electrónico da la impresión de observar miga de pan. La velocidad de retrogradación corresponde a la velocidad de asentado del pan. Dado que la retrogradación de la amilopeptina es influida por la velocidad de retrogradación de la amilosa, el aumento del par entre C4 y C5 es un muy buen indicador de la velocidad de asentado del producto final.

1.23 Mixolab profiler

El Mixolab Profiler es una herramienta que simplifica la lectura de la curva Mixolab Standard dando una descripción directa de las características fisicoquímicas de la masa, es decir, el software mide todos los parámetros de la curva y los transforma en seis índices cualitativos, descritos a continuación, usando una escala del 0 a 9 (CHOPIN Technologies, 2016):

- El potencial de absorción
- El comportamiento en el mezclado (durante la Fase 1)
- La resistencia del gluten frente al calentamiento de la masa (Fase 2)
- El comportamiento de la viscosidad en calentamiento (comportamiento del almidón + amilasas) (Fase 3)
- La resistencia a la actividad enzimática (tales como daño por germinación) (Fase 4) + La retrogradación (Fase 5)

1.24 Índice de absorción

La absorción de agua tiene un impacto en todo el proceso, pero particularmente en las propiedades mecánicas, el rendimiento de la masa (aspecto económico) y la calidad del producto final (Hamer & Hosenev, 1998).

Por lo general, incrementar la absorción de agua lleva a una mayor gelatinización, un mejor leudado en el horno, mejor suavidad de la miga y una más lenta retrogradación del almidón. Por eso la capacidad de absorción es crítica para la panificación (Sluimer, 2005).

Explicación del índice de absorción de agua del profiler: Un valor alto será mejor, desde un punto de vista económico ya que mejora el rendimiento del producto.

Las proteínas, humedad, almidón dañado y cenizas se consideran factores que aumentan la absorción de agua. Por lo que podemos decir que un valor constante de absorción de agua es una vía para asegurar la calidad de una harina.

Este índice depende principalmente de la composición de la harina (proteína, almidón, fibra, etc.).

1.25 Índice de amasado

El volumen, la formación de la miga (la incorporación de aire durante el amasado), la textura de la miga y su resiliencia, están influenciados por el proceso de amasado. Se considera a una harina con buena calidad panadera cuando presenta tiempos de desarrollo y estabilidad prolongados. En la Tabla 3 se muestra los distintos usos que se le puede dar a una harina y el índice Mixolab profiler que refleja las características de mezclado necesarias para llegar a un resultado óptimo. Los valores son comparables con los del Farinógrafo.

Tabla 3. Requisitos para una calidad panadera específica (Dubat, 2013)

Tipo de farinograma.	Usos.	Índice de amasado Mixolab.
Débil	Pasteles, galletas, fideos de trigo suave.	1-3
Medio	Galletas, fideos, pan de bajo volumen.	2-4
Fuerte.	Pan de molde, fideos de trigo duro.	4-6
Muy fuerte.	Para mezclas.	No detectado

No puede referirse a un “buen índice” cualquier valor obtenido, debido a que ello depende del producto y proceso seleccionado. El índice de amasado muestra la fuerza de la masa frente al amasado. Algunos productos requieren de una fuerza mayor como el pan de molde, mientras que otros no como los productos de galletería. También interfieren otros factores como tiempos de amasado, temperatura de los ingredientes y formulación (Dubat, 2013).

Este índice representa las propiedades de la harina durante el mezclado a 30°C. Toma en cuenta la estabilidad, el tiempo de desarrollo de la masa, fuerza, entre otros.

Cuanto más alto es el Índice de amasado, la masa es más estable durante el mismo proceso (Dubat, 2013).

1.26 Fuerza de gluten

Un índice de Gluten+ alto se traduce en un buen mantenimiento de la estructura proteica durante la fase de amasado, debido a la formación de un gran número de enlaces de hidrógeno. Mientras que un índice bajo se observará en la gráfica CHOPIN+ como la caída de la viscosidad, debido al rompimiento de los enlaces proteicos frente al incremento de temperatura. Este proceso continúa e incrementa gradualmente entre 30° y 60°C. Esta evolución modificara la elasticidad de la masa. Existe relación entre una viscosidad baja y el mantenimiento del volumen en el horno. También no son recomendables índices demasiado altos porque las masas tienden a ser muy elásticas y no levantar correctamente en el horno.

No es determinante decir que el volumen del producto depende solamente del índice Gluten+, pero está claro que tiene una importancia crucial para el producto durante los primeros momentos de la fase de horneado (Dubat, 2013).

Cuanto más alto es el índice Gluten+, mayor será la resistencia del gluten frente al calentamiento.

1.27 Índice de viscosidad

Representa el incremento de la viscosidad durante la fase de calentamiento. Depende de la actividad amilácea y la calidad del almidón. A partir de 55°C, la proteína se desnaturaliza y el gluten pierde la capacidad de formar un enlace continuo. La gelatinización del almidón (50-60°) ocurre debido al hinchamiento de los gránulos, esta etapa es de gran importancia ya que fija la estructura de la miga, la cual depende de la proporción entre la amilosa y amilopectina.

El índice de viscosidad ocurre en la fase donde muchos parámetros fisicoquímicos y bioquímicos trabajan juntos. En este momento, la proteína ya no tiene impacto en la estructura y el agua migra desde la proteína hacia el almidón.

Una viscosidad baja revela una harina con daño por germinación o que tendrá un comportamiento de almidón no usual. El valor de viscosidad está estrechamente relacionado con el índice de resistencia amilácea.

Cuanto más alto es el Índice, más viscosa será la masa enfrentando el calentamiento (Dubat, 2013).

1.28 Índice amiláceo

El ataque amiláceo alcanza su máximo entre 60 y 70°C, al hidrolizar el almidón, las amilasas reducen la viscosidad (principio del Falling Number). El índice será alto cuando la actividad amilácea se baja (hipo diastático), mientras que un índice bajo demuestra una actividad amilácea importante (hiper diastática).

Cuando la actividad amilácea es muy alta se producen masas blandas, pegajosas y difíciles de trabajar mientras que un índice bajo demuestra una actividad amilácea importante (Dubat, 2013).

Este índice depende de la habilidad del almidón para resistir la amilólisis. Cuanto más alto es el índice amiláceo, más baja es la actividad amilácea (Dubat, 2013).

1.29 Índice de retrogradación

La retrogradación es el proceso en el cual las moléculas gelatinizadas de almidón se reasocian para formar la estructura cristalina en forma de hélice, en este momento comienza a perder humedad, sus celdas se encogen y se hacen menos elásticas y secas, lo que se traduce en el envejecimiento del pan.

Un incremento en el par entre C4 y C5 proporciona un indicativo de la forma en que el almidón se retrograda cuando la temperatura de la masa desciende (fase de enfriamiento) (Dubat, 2013).

Este índice depende de las características del almidón y su hidrólisis durante la prueba. Cuánto más alto sea el índice de retrogradación, menor será la vida de anaquel del producto y, por el contrario, un Índice bajo determina una larga vida de anaquel. En la Tabla 4 se cita de forma resumida cada uno de los índices Mixolab.

Tabla 4. Descripción de índices profiler (CHOPIN Technologies, 2016).

Índice.	Valor.	Descripción.
Absorción	De 0 a 9	A mayor valor, la harina absorbe más agua.
Amasado	De 0 a 9	A mayor valor, la harina es más estable durante el amasado.
Gluten	De 0 a 9	A mayor valor, resiste más el calentamiento y la calidad de la proteína es mejor.
Viscosidad	De 0 a 9	A mayor valor, aumenta la viscosidad de la más frente al calentamiento.
Amilasas	De 0 a 9	A mayor valor, la actividad amilácea es más baja.
Retrogradación	De 0 a 9	A mayor valor, se reduce el tiempo de conservación del producto.

1.30 Pruebas reológicas

Alveógrafo

El principio del alveógrafo consiste en reproducir a escala conveniente y en condiciones experimentales definidas, el alveolo panario. Se hace una porción de masa en forma de disco plano a hidratación constante y se somete a una deformación por hinchamiento, con ayuda de presión de aire bajo ella para simular la deformación de la masa por el gas producido durante la fermentación, simultáneamente un manómetro sincronizado registra las variaciones de presión dentro del alveolo hasta la ruptura de la bola formada (AACC Método 54-30A) Estas variaciones de presión son registradas en una gráfica denominada alveograma (ver Fig. 2).

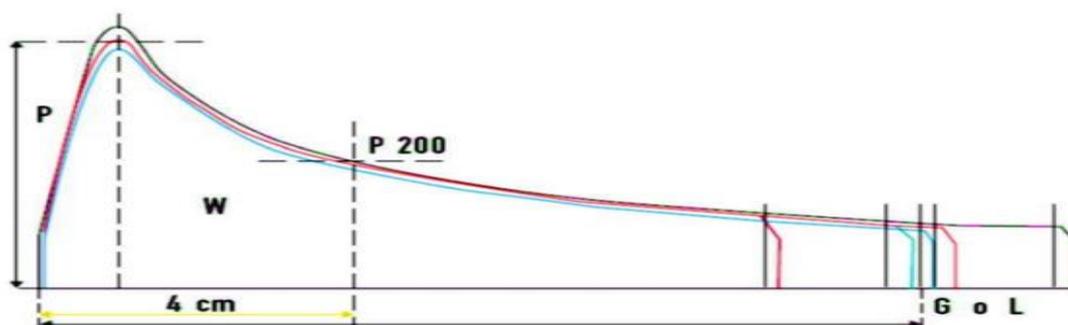


Fig. 2. Alveograma.

Este método consiste en obtener una masa compuesta por unas cantidades fija de harina, agua y sal que se amasan durante unos 6 minutos. Luego se lamina, y se obtienen de esta lámina 5 discos de masa, que, tras un periodo de reposo, se disponen sobre una chapa con un agujero a través del cual se le insufla aire. Con este método se obtienen los siguientes valores (UCO, 2002):

- Valor P: expresa la tenacidad y mide la resistencia que opone la masa a la rotura. Se representa en el alveograma por la altura de la curva expresada en milímetros.

Tabla 5. Valor P (Alveógrafo).

>60	Muy tenaz.
De 50 a 60	Tenaz.
De 35 a 50	Normal.
De 25 a 35	Limitada tenacidad.
<25	Baja tenacidad.

Valor L: expresa la extensibilidad y mide la capacidad de la masa para ser estirada, indicando su elasticidad. Se representa por la longitud de la abscisa o base de la gráfica.

Tabla 6. Valor L (Alveógrafo)

>115	Muy extensible.
De 90 a 115	Buena extensibilidad.
De 90 a 70	Débil o limitada extensibilidad.
<50	Baja extensibilidad.

Valor P/L: indica el equilibrio y es la relación entre la tenacidad y la extensibilidad. Del equilibrio depende el destino más adecuado de la harina, panadería, galletería, etc. Se considera equilibrio entre los siguientes valores:

Tabla 7. Valor P/L (Alveógrafo)

De 1,5 a 2,0	Para trigos mejorantes.
De 0,8 a 1,5	Para trigos de elevada fuerza.
De 0,6 a 0,8	Para trigos de fuerza (harina de panadería)
De 0,4 a 0,6	Para trigos de fuerza media (harina para galletería)
De 0,3 a 0,4	Para trigos débiles (harinas para producto seco)

Valor G: Llamado grado de hinchamiento, indica la aptitud de la harina para dar un pan bien desarrollado. Se clasifica según el índice de dilatación.

Tabla 8. Valor G (Alveógrafo)

>26	Excesiva
De 23 a 26	Elevada
De 20 a 23	Normal
De 18 a 20	Limitada
De 16 a 18	Baja
<16	Muy baja

Valor W: Expresa la fuerza panadera e indica el trabajo necesario para deformar una lámina de masa empujada por el aire. Se representa por la superficie de la curva del alveograma (UCO, 2002).

Tabla 9. Valor W (Alveógrafo).

>250	Fuertes o mejorantes
De 200 a 250	Gran fuerza
De 150 a 200	Media fuerza
De 90 a 250	Débiles
<90	Muy débiles

Farinógrafo

Este método se aplica para la determinación de la absorción de agua y el comportamiento durante el amasado de una harina de trigo. El farinógrafo es una amasadora que permite medir la consistencia de las masas, y por tanto el potencial de

hidratación de una harina por una consistencia dada, 500 unidades de Brabender. La curva, suministra el valor del par o consistencia en función del tiempo (ver Fig. 3).

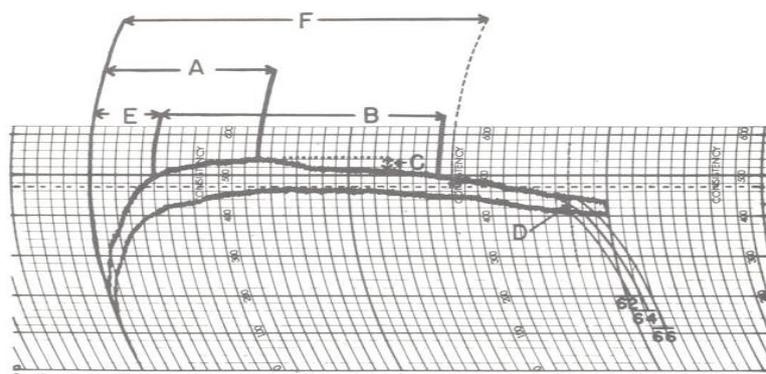


Fig. 3. Farinograma.

La información que aporta la curva registrada por el farinógrafo es la siguiente:

- Tiempo de desarrollo de la masa (E): corresponde al tiempo necesario para alcanzar la consistencia deseada en relación con la rapidez de formación de la masa. Este valor nos permitirá diferenciar harinas de amasado lento o rápido.
- Estabilidad (B): corresponde al tiempo transcurrido entre el punto en que la parte superior de la curva alcanza la línea de 500 unidades farinográficas y el punto en que la misma parte superior de la curva cruza nuevamente la línea de 500 unidades. La estabilidad nos proporciona una indicación sobre la estabilidad de la consistencia.
- Grado de decaimiento (D): es la magnitud de descenso de consistencia al proseguir el amasado. Las harinas obtenidas de trigos de alto valor panadero presentan un decaimiento muy poco importante, sin embargo, las harinas débiles presentan importantes valores de D. Es la diferencia en unidades farinográficas entre el centro de la curva en el punto de máxima consistencia y el centro de la curva 12 minutos después de este máximo (Dubois, 1994).

1.31 Determinación de las propiedades texturales

La textura incluye un número de sensaciones físicas diferentes, siendo más conveniente utilizar el término “propiedades texturales” que “textura”. Las propiedades texturales de un alimento son el grupo de características físicas que dependen de los elementos estructurales del material, se perciben por el sentido del tacto, se relacionan con la deformación, desintegración y flujo por la aplicación de una fuerza, y se miden objetivamente como una función de masa, tiempo y distancia (Rodríguez et al., 2005).

La textura es uno de los atributos primarios que junto con el color, sabor y olor conforman la calidad sensorial de los alimentos (Hleap et al., 2010). Es un factor de aceptabilidad sensorial importante para la aprobación de algunos alimentos por parte del consumidor.

Como ha establecido (Szczesniak, 1975), en el método de “Análisis de Perfil de Textura” (TPA, por sus siglas en inglés) para medir objetivamente este parámetro, el cual imita el proceso de masticación.

El método consiste en comprimir una porción del alimento dos veces en movimientos recíprocos que imitan la acción de la quijada al momento de masticar de una persona, obteniéndose siete parámetros texturales de una curva de fuerza/tiempo (Fig.4), cinco son medidos directamente y dos son calculados indirectamente.

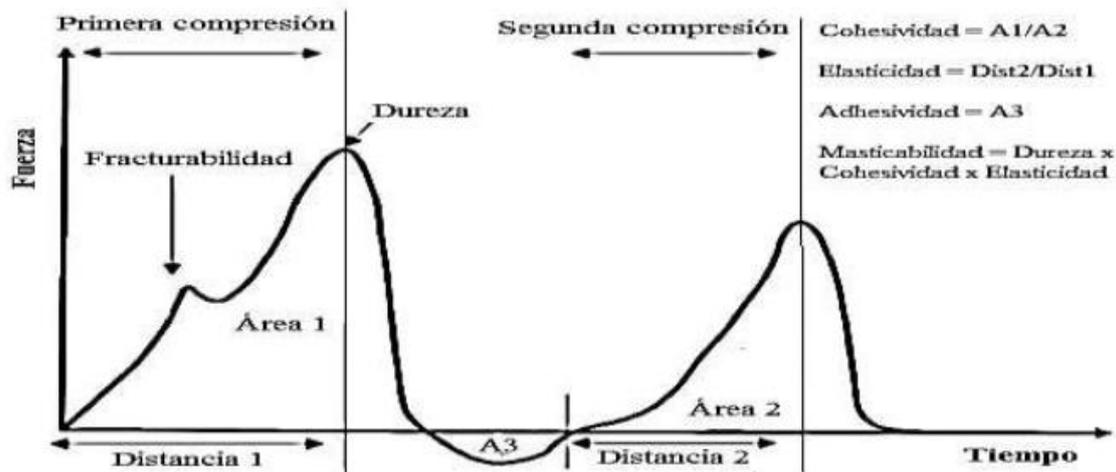


Fig. 4. Gráfica general del análisis del perfil de textura (Hleap et al., 2010).

Los parámetros texturales son los siguientes:

- **Fracturabilidad:** Es la primera caída significativa de la curva durante el primer ciclo de compresión producto de un alto grado de dureza y bajo grado de cohesividad. Se refiere a la dureza con la cual el alimento se desmorona, cruje o revienta. Se expresa en unidades de fuerza (Newtons).
- **Dureza:** La máxima fuerza durante el primer ciclo de compresión. Se refiere a la fuerza requerida para comprimir un alimento entre los molares o entre la lengua y el paladar. Se expresa en unidades de fuerza (Newtons).
- **Adhesividad:** El área bajo la curva de fuerza de cualquier pico negativo después del primer ciclo de compresión. Si el material es pegajoso o adhesivo, la fuerza se convierte en negativa. El área de esta fuerza negativa (Área 3), se toma como una medida de la adhesividad de la muestra.
- **Cohesividad:** Cociente entre el área positiva de la curva de fuerza de la segunda compresión (Área 2) y el área bajo la curva de la primera compresión (Área 1). Representa la fuerza con la que están unidas las partículas, límite hasta el cual se puede deformar antes de romperse. Es adimensional.
- **Elasticidad:** Es la altura que recupera el alimento durante el tiempo que recorre entre el primer ciclo y el segundo ($D1/D2$). Mide cuanta estructura original del alimento se ha roto por la compresión inicial. Es adimensional.
- **Gomosidad:** El producto de la dureza por la cohesividad (Newtons). La energía requerida para desintegrar un alimento semisólido de modo que esté listo para ser tragado.
- **Masticabilidad:** El producto de la elasticidad por la cohesividad. Representa el trabajo necesario para desintegrar un alimento hasta que esté listo para ser deglutido (Hleap et al., 2010).

JUSTIFICACIÓN

2. JUSTIFICACIÓN

Los productos de panificación han experimentado una mejora de calidad radical en los últimos 10 años. Sobre todo, en cuanto a sabor, textura y frescura. Mantener la suavidad de productos de panificación es un parámetro de calidad muy importante en función de los cambios en la distribución logística y hábitos de consumo.

El envejecimiento de la miga causa un impacto financiero negativo bastante significativo para la industria, ya que el producto final pierde sus características más deseadas por consumidor especialmente la suavidad de la miga.

Existen hoy una serie de ingredientes que son fundamentales en la elaboración del pan al conseguir que la masa resultante pueda ser manipulada en un proceso mecanizado y obtener mayor regularidad y seguridad en la producción. Son los denominados mejorantes en panificación cuyas funciones por lo general consisten en estimular la fermentación, reforzar el gluten, dar volumen a las masas, modificar sus características plásticas y obtener un producto final que agrade al consumidor.

La introducción de enzimas en esta industria, representa la máxima contribución sobre esta mejoría. Los rápidos avances en la biotecnología trajeron enzimas como las alfa-amilasas fúngicas que mejoran sustancialmente el efecto anti-envejecimiento en comparación con las amilasas tradicionales las cuales han presentado algunas desventajas al seguir con su actividad una vez el producto se encuentra en punto de venta, haciendo que el pan se vuelva pegajoso.

Es por eso que en el presente trabajo de investigación se analiza la efectividad de las alfa-amilasas fúngicas, para ofrecer un producto final de la mejor calidad por más tiempo mediante la elaboración de pan de molde utilizando mezclas de alfa-amilasas fúngicas y monoglicéridos que permitan obtener pan de molde con mejores características fisicoquímicas y una disminución de la dureza de la miga.

Al final esta información podría ser útil y extrapolada a nivel industrial a través de la aplicación de enzimas en el área de panificación al reformular los mejorantes panarios comercializados actualmente.

HIPÓTESIS

3. HIPÓTESIS

La aplicación de enzimas α -amilasas fúngicas y monoglicéridos nos permitirá mejorar las propiedades Físico-Químicas y la textura del pan de molde.

OBJETIVOS

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto que tiene la adición de α -amilasas fúngicas en combinación con monoglicéridos sobre las características fisicoquímicas y la textura del pan de molde.

4.2 Objetivos Específicos

Estandarizar el método para la preparación de pan de molde.

Encontrar la concentración adecuada de enzimas y monoglicéridos para mejorar las propiedades fisicoquímicas y la textura del pan de molde.

Mediante los resultados de los equipo Mixolab 2.0 y Alveograph PC monitorear las formulaciones a utilizar y de esta forma estudiar si es posible mediante estos resultados disminuir la cantidad de pruebas de panificación lo cual significaría ahorro de recursos materiales como humanos.

Evaluar el efecto de los ingredientes de panificación en las propiedades fisicoquímicas y la textura del pan de molde.

METODOLOGÍA

5 METODOLOGÍA

5.1 Materiales y métodos

La materia prima y el producto final para probar el experimento se sometieron a los métodos que a continuación se mencionan.

5.2 Diseño experimental

Diseño por bloques aleatorizados completos, con cuatro tratamientos (tres tratamientos y un control, tres bloques que son (día 1, día 7 y día 15) y tres repeticiones por lo cual se tendrán doce unidades experimentales. Como variable de respuesta se evaluará la suavidad del pan en los días (1, 7 y 15) posteriores a la elaboración del mismo mediante un perfil de textura. Se aplicará un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de LSD en busca de diferencias estadísticamente significativas con un valor $p \leq 0,05$ entre los tratamientos.

5.3 Tratamientos

La tabla 10 presenta los tratamientos y bloques establecidos y la tabla 11 su respectiva aleatorización.

Tabla 10. Tratamientos y bloques del diseño experimental.

Tratamientos	Bloques Suavidad		
	Día 1	Día 7	Día 15
Blanco			
Enzima (A)			
Enzima (B)			
Enzima (C)			

Tabla 11. Aleatorización de las repeticiones.

Repeticiones		
Enzima (C)	Blanco	Enzima (B)
Enzima (B)	Enzima (A)	Enzima (C)
Enzima (A)	Enzima (B)	Blanco
Blanco	Enzima (C)	Enzima (A)

5.4 Variables de estudio

Como variables de estudio se realizaron los siguientes análisis:

Análisis de comportamiento reológico de las diferentes formulaciones de pan de molde mediante la caracterización de las mismas utilizando los equipos Mixolab 2.0 y Alveograph PC.

Caracterización del producto terminado en las diferentes formulaciones de pan de molde.

Propiedades fisicoquímicas: porcentaje de humedad (%H), potencial de hidrógeno (pH), actividad de agua (Aw) y Acidez total titulable.

Análisis de perfil de textura: Firmeza.

5.5 Ingredientes

Tabla 12. Ingredientes de la formula (Blanco).

Ingredientes	Gramos (g)	%
Harina Manitoba.	2200.0	100
Levadura Oro Saf- Instant.	26.4	1.2
Azúcar.	132.0	6.0
Sal.	44.0	2.0
Propionato.	11.0	0.5
Grasa	66.0	3.0
Agua	1342.0	61.0

Tabla 13. Ingredientes de la formula de prueba enzima A.

Ingredientes	Gramos (g)	%
Harina Manitoba.	2200.0	100
Levadura Oro Saf- Instant.	26.4	1.2
Azúcar.	132.0	6.0
Sal.	44.0	2.0
Propionato.	11.0	0.5
Grasa	66.0	3.0
Enzima (A)	0.132	0.006
Monoglicéridos.	6.6	0.30
Agua	1342.0	61.0

Tabla 14. Ingredientes de la formula de prueba enzima B.

Ingredientes	Gramos (g)	%
Harina Manitoba.	2200.0	100
Levadura Oro Saf- Instant.	26.4	1.2
Azúcar.	132.0	6.0
Sal.	44.0	2.0
Propionato.	11.0	0.5
Grasa	66.0	3.0
Enzima (B)	0.132	0.006
Monoglicéridos.	6.6	0.30
Agua	1342.0	61.0

Tabla 15. Ingredientes de la formula de prueba enzima C

Ingredientes	Gramos (g)	%
Harina Manitoba.	2200.0	100
Levadura Oro Saf- Instant.	26.4	1.2
Azúcar.	132.0	6.0
Sal.	44.0	2.0
Propionato.	11.0	0.5
Grasa	66.0	3.0
Enzima (B)	0.154	0.007
Monoglicéridos.	6.6	0.30
Agua	1342.0	61.0

5.6 Caracterización de la harina y formulas de estudio

La muestra de harina utilizada para su caracterización fue la harina manitoba. Utilizando los equipos Mixolab 2.0 (marca Chopin Technologies), Alveograph PC (marca Chopin Technologies) y la termobalanza OHAUS modelo MB45.

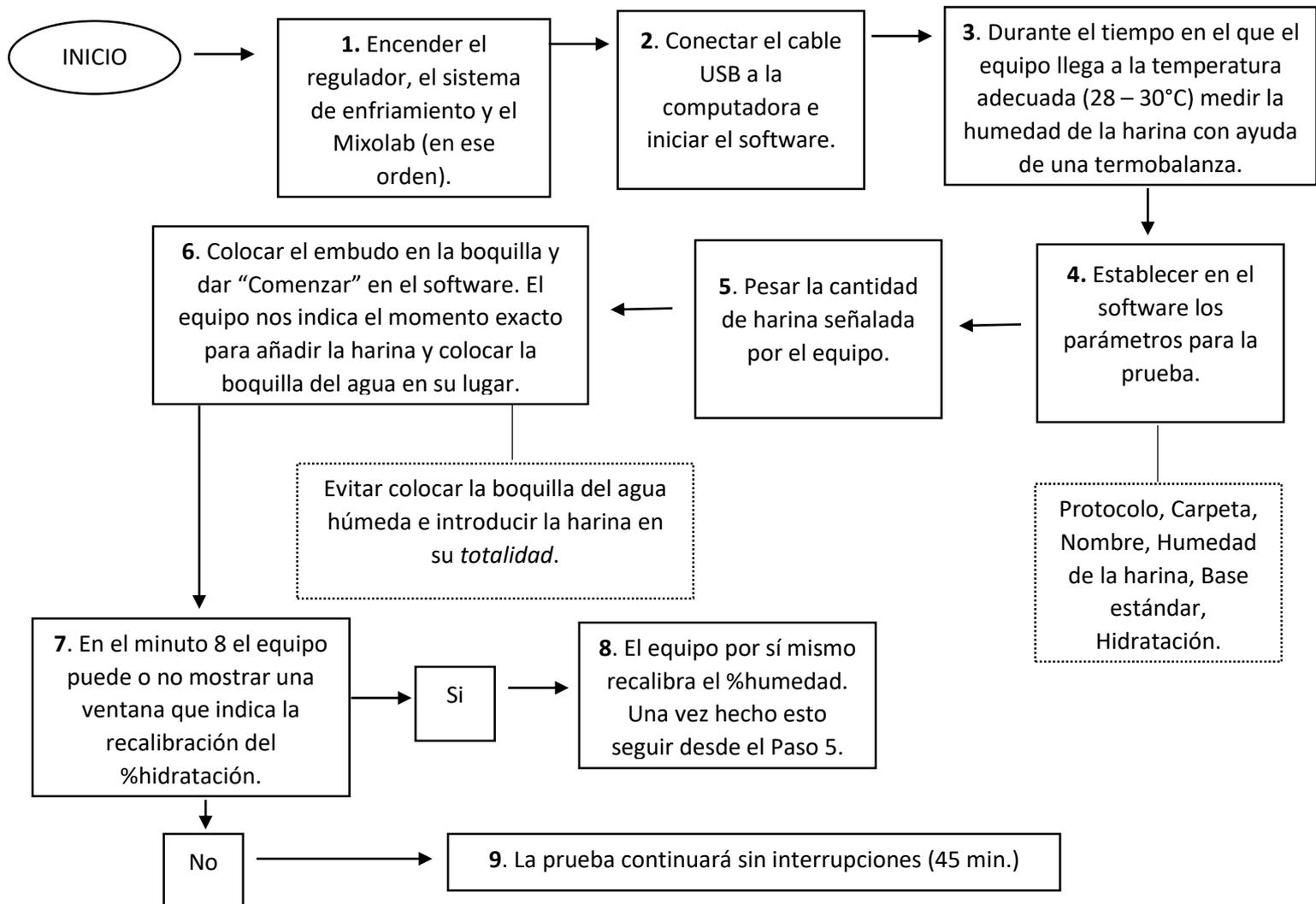


Fig. 5. Diagrama general del proceso del equipo Mixolab para la caracterización fisicoquímica de la harina manitoba y las fórmulas de prueba.

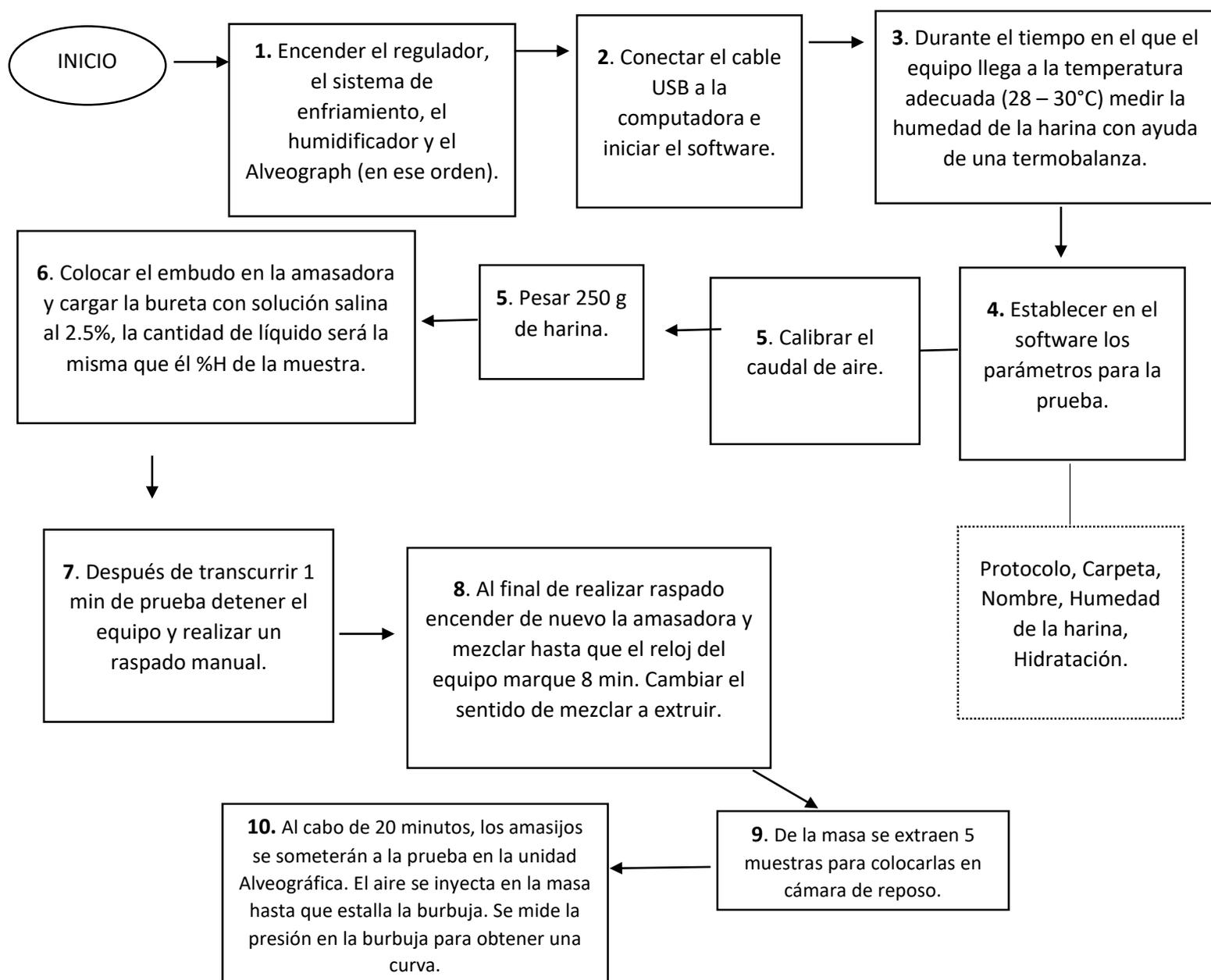


Fig. 6. Diagrama general del proceso del equipo Alveograph PC para la caracterización fisicoquímica de la harina manitoba y las fórmulas de prueba.

5.7 Elaboración de la masa para pan de caja

Las masas fueron elaboradas mezclando los ingredientes en una batería de mezcladoras (Malaxadora dinámica / batch, SP 12 de 5 kg, marca Diosna), con los siguientes tiempos, en primera velocidad durante 1 min para mezclar los ingredientes en polvo, posteriormente se añadió el agua y se dieron 3 min más de mezclado en velocidad baja, se agregó la materia grasa y se mezcló en segunda velocidad durante 17 min, una vez que salió la masa se pesaron cinco piezas de masa de un peso de 740 g c/u y 20 g de masa más para el vaso de control de volumen, la masa ya seccionada se voleo y se introdujo a la maquina forjadora (formadora de pastones modelo Major, marca Bongard) para posteriormente colocar las piezas ya formadas en los moldes y se

introdujeron en la Fermentadora (Thermo Scientific™ Forma™) con una humedad de 80% y una temperatura de 38°C hasta que el vaso control marcara 3.5 cm de desarrollo, los moldes se sacaron de la fermentadora y se introdujeron a un horno de columpio (modelo OV851G, marca Baxter) con una temperatura de 220°C durante 25 min, una vez que salen del horno los panes se desmoldan y se colocan en rejillas hasta que las piezas llegan a una temperatura interna de 32°C y así podrán ser empacados.

5.8 Volumen de la fermentación

Se colocaron 20g de masa en el vaso controlador de fermentación de Calvin hasta que este alcance una altura de 3.5 cm.

5.9 pH de las masas y del pan

El pH se evaluó empleando un potenciómetro (Orion Star A211, Thermo scientific) siguiendo el método AOAC 981.12 (AOAC, 1982). Las mediciones de pH se realizaron por triplicado con 15g de masa al salir de la cámara de fermentación y 75g de agua destilada, la muestra fue previamente molida, siguiendo el mismo método se realizaron las lecturas del pan a los días 1,7 y 15 después su elaboración, con 15g de miga y 75g de agua destilada.

6.0 Acidez total titulable de las masas y del pan

La acidez total titulable se evaluó empleando un potenciómetro (Orion Star A211, Thermo scientific) siguiendo el método AOAC 981.12 (AOAC, 1982). Las mediciones de acidez total titulable se realizaron por triplicado con 15g de masa al salir de la cámara de fermentación y 75g de agua destilada, la muestra fue previamente molida, siguiendo el mismo método se realizaron las lecturas del pan a los días 1,7 y 15 después su elaboración, con 15g de miga y 75g de agua destilada.

6.1 Determinación de volumen y volumen específico

Se registró el peso de las piezas de pan mediante una balanza granataria marca OHAUS y posteriormente se llevó a cabo el método 10-05.01 de la AACC para la determinación del volumen la cual consiste en colocar la pieza de pan en el depósito inferior del medidor, dejando caer la semilla libremente desde el depósito superior, registrando el volumen de semilla desplazada la cual equivale al volumen del pan.

Mientras que el volumen específico se obtuvo de la relación volumen/peso de las piezas de pan elaboradas.

6.2 Determinación del %humedad

Se hicieron mediciones de porcentaje de humedad por el método rápido de la termobalanza (NMX-F-428-1982), con 5g de miga, todas las muestras se tomaron de la misma rebana de cada pieza de pan, durante los días 1, 7 y 15 después su elaboración.

6.3 Determinación de la actividad de agua

La actividad de agua se determinó con un medidor de actividad acuosa directo Aw marca Rotronic modelo HP23-AW-A, con 1g de miga todas las muestras se tomaron de la misma rebana de cada pieza de pan, durante los días 1,7 y 15 después su elaboración.

6.4 Análisis de perfil de textura

Se realizó un análisis de perfil de textura utilizando un texturómetro marca SHIMADZU, modelo Eztest Shimadzu Corporation con número de serie 346-51990 (Kyoto, Japón)

equipado con una sonda cilíndrica ($D = 50.0 \text{ mm}$, $L = 20 \text{ mm}$). Se colocaron dos rebanadas de pan las cuales fueron sometidas a una doble compresión, ambas compresiones con una velocidad de 50 mm/min , con un tiempo de 20 segundos entre cada una de ellas, durante los días 1, 7 y 15 después su elaboración. Los parámetros de las pruebas del perfil de textura fueron obtenidos al analizar las curvas arrojadas por el software del equipo.

6.5 Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de LSD en busca de diferencias estadísticamente significativas con un valor $p \leq 0,05$ entre los tratamientos. Se realizaron tres lotes y cada uno se analizó por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7. Resultados y discusión

Para medir la calidad panadera de la harina se utilizó, Alveógrafo y Mixolab 2.0 que mide la consistencia de la masa mediante la fuerza necesaria para mezclarla a una velocidad constante y la absorción del agua necesaria para alcanzar esta consistencia. El principio de la medida se basa en el registro de la resistencia que la masa opone a una acción mecánica constante en unas condiciones de prueba invariables (Soto, 2009).

7.1 Caracterización de la harina y formulas de estudio utilizando el equipo Mixolab 2.0 en modo estándar.

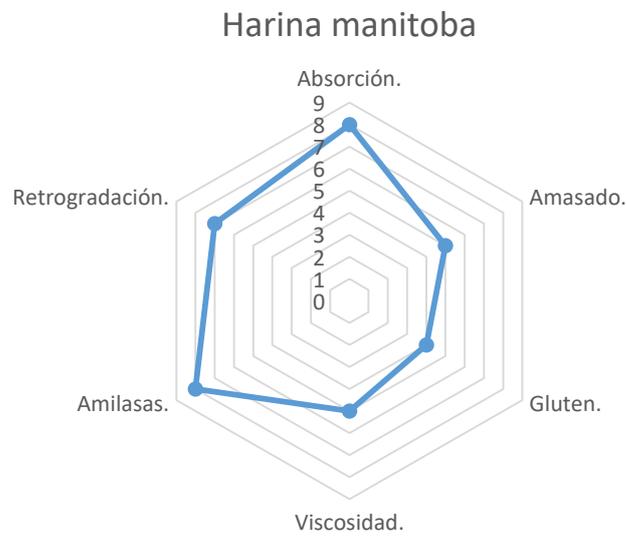


Fig. 7. Gráfico del Mixolab profiler de la harina manitoba.

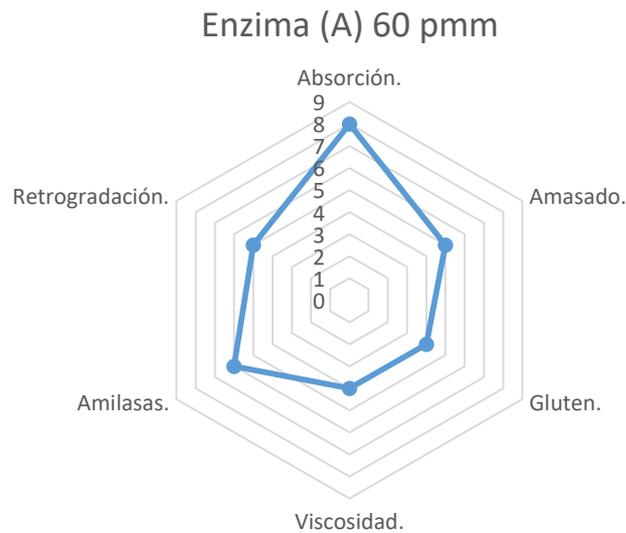


Fig. 8. Gráfico del Mixolab profiler de enzima (A) 60 ppm.

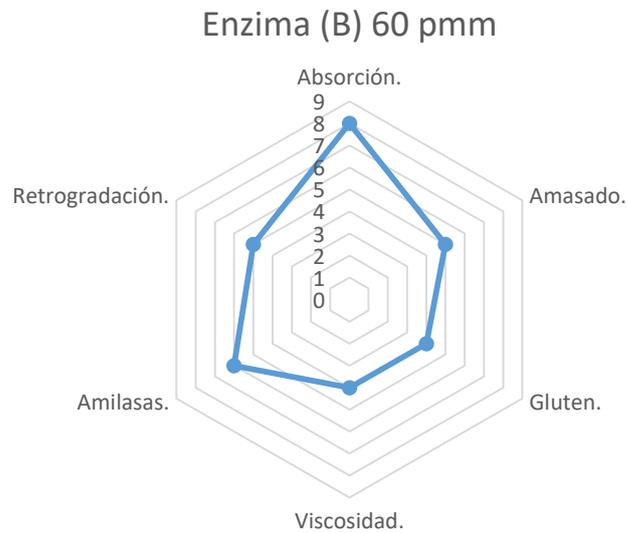


Fig. 9. Gráfico del Mixolab profiler de enzima (B) 60 ppm.

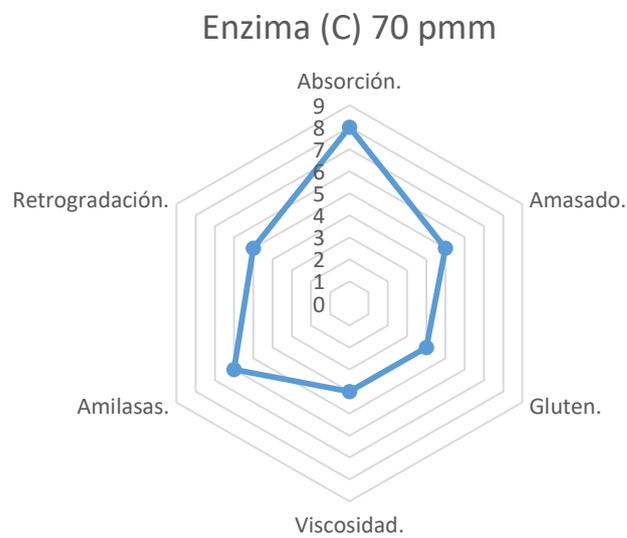


Fig. 10. Gráfico del Mixolab profiler de enzima (C) 70 ppm.

Tabla 16. Índices del Mixolab profiler obtenidos de la curva estándar para la caracterización fisicoquímica de la harina y de las fórmulas a probar.

Índice.	Harina manitoba	Enzima (A) 60 ppm	Enzima (B) 60 ppm	Enzima (C) 70 ppm
Absorción	8	8	8	8
Amasado	5	5	5	5
Gluten	4	4	4	4
Viscosidad	5	4	4	4
Amilasas	8	6	6	6
Retrogradación	7	5	5	5

Se llevó a cabo el análisis de cuatro formulaciones de pan de molde (por triplicado) con la variante del tipo y concentración de enzimas. Con el fin de utilizar el equipo como herramienta para el control de la calidad panadera de una harina, haciendo énfasis en la actividad enzimática y a la retrogradación.

A continuación, se muestran los resultados obtenidos:

Las cuatro formulaciones presentaron comportamientos diferentes, sin embargo, todas siguen un mismo patrón debido a que su base es la misma.

Índice de Absorción de Agua

El potencial de hidratación de las harinas se ve reflejado en su capacidad de absorber agua hasta formar una masa viscoelástica, es un indicativo de cuánto va a rendir una harina en la producción del pan a mayor absorción de agua mayor rendimiento. Los resultados obtenidos por el equipo indican que no hay una mayor absorción de agua en ninguno de los tratamientos, el almidón dañado y la humedad de la muestra, influyen de manera directa en la absorción de agua.

Índice de Amasado

Rodríguez et al., (2005) indica que el comportamiento durante el amasado es una característica que indica la resistencia de la masa a dicho proceso. A niveles intermedios de humedad y con agitación continua el sistema agua/harina se vuelve menos húmedo y pegajoso, constituyéndose en una masa cohesiva y elástica. Al mezclar por largos periodos, la masa se vuelve más resistente a la extensión, lo cual se conoce como el desarrollo completo de la masa.

La variación de los índices de amasado de las harinas se debe principalmente a la cantidad de gluten; puesto que a mayor cantidad de la proteína, provoca mayor resistencia de la acción de amasado, todos los tratamientos presentan el mismo índice de amasado, al utilizar la misma harina para todas las pruebas el resultado era esperado.

Índice de Gluten

Según Carceller & Aussenac (1999), el índice de gluten es indicativo de la fuerza de las proteínas, este índice se refiere a la calidad de la proteína y no a la cantidad. Está claramente establecido que los principales componentes que determinan la calidad panadera del trigo son las proteínas formadoras de gluten, estas proteínas son las gluteinas y gliadinas. Se considera que las gliadinas le dan extensibilidad y viscosidad a las masas, mientras que las gluteinas le dan elasticidad y fuerza.

Podemos observar el mismo comportamiento en todos los tratamientos ya que de igual manera la harina en cuestión es la misma para cada uno de ellos.

Índice de viscosidad

Calaveras (1996) mencionó que la influencia de la actividad amilácea es de gran importancia en las características de la miga del pan. La alfa amilasa disminuye rápidamente la viscosidad de la masa, hidrolizando y gelatinizando el almidón (55-65°C) es decir en su inicio y la inactivación de las enzimas durante el proceso de cocción (75°C) es factor determinante para la calidad de la miga del pan.

Es así como todos los tratamientos presentaron la misma disminución de la viscosidad en comparación con el blanco.

Índice de la Actividad amilácea

A partir de cierta temperatura, los fenómenos vinculados a la gelatinización del almidón se vuelven preponderantes y se observa entonces un incremento de la consistencia. La intensidad de este incremento depende de la calidad del almidón y, eventualmente, de los aditivos añadidos. Resulta de gran influencia la actividad de la α amilasa ya que estas disminuyen rápidamente la viscosidad de la masa.

El valor de la consistencia al final de la curva depende mayoritariamente de la actividad amilácea endógena o añadida. Cuanto más grande sea la disminución de la consistencia, más importante será la actividad amilácea.

La viscosidad y la resistencia de la amilasa tienen una relación directamente proporcional, es decir más fuerte el índice de viscosidad y de amilasas, menos fuerte es la actividad amilácea.

Mientras más alto es el índice menos fuerte es la actividad amilácea. El contenido de amilasas debe ser controlado ya que una actividad amilácea elevada produce masas blandas, pegajosas y difíciles de trabajar mientras que un índice bajo demuestra una actividad amilácea importante (Dubat, 2013).

Como podemos observar en la tabla 16 el índice de la actividad amilácea es mejor en todas las fórmulas que se están probando en comparación con la formulación Original. Por lo cual podemos decir que si se ve reflejado el aumento de alfa amilasas en los índices que nos arroja el equipo.

Índice de Retrogradación

El índice de retrogradación da una información importante sobre el potencial de conservación del producto elaborado. El almidón es el constituyente mayoritario en la miga del pan, los cambios físicos que acompañan a la retrogradación del almidón han sido propuestos como la principal causa de endurecimiento del pan.

Las comparaciones de las formulaciones con respecto al control muestran una disminución en el valor de la retrogradación, esto nos indica una mayor vida de anaquel del producto final, se infiere que la acción de los complejos formados enzimáticamente reduce el efecto de endurecimiento, al formarse suficientes de dichos complejos como para interferir con la retrogradación del almidón (Popper, 2010).

Los tratamientos que presentan una retrogradación más lenta pueden ser afectados por la adición de los monoglicéridos los cuales proporcionan una extensión de la vida útil del producto en términos de blandura, siendo capaces de unirse con la amilosa lo que debe contribuir a su efecto como ablandador de la miga.

La importancia de este estudio radica en la posibilidad de predecir por medio del protocolo estándar del Mixolab la actividad amilácea y la retrogradación del almidón presente en la harina que utilizamos para el pan.

7.2 Caracterización de la harina y formulas de estudio utilizando el equipo Mixolab 2.0 en modo farino

De igual manera se realizó la caracterización de la harina manitoba y de las fórmulas de estudio, utilizando el protocolo Simulador (modo farino) del Mixolab. Cuyos resultados se muestran a continuación.

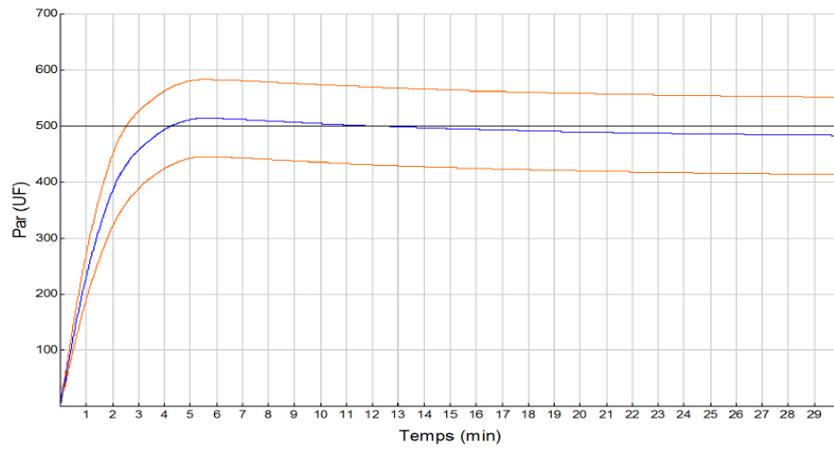


Fig. 11. Gráfico del Mixolab simulador (modo farino) de la harina manitoba.

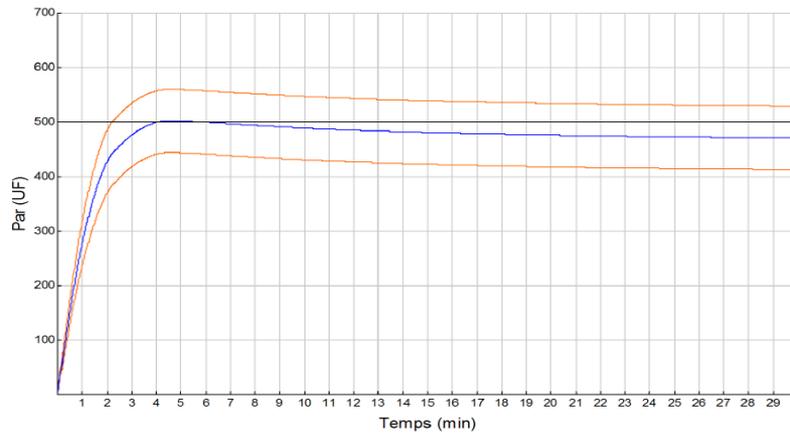


Fig. 12. Gráfico del Mixolab simulador (modo farino) de Enzima (A).

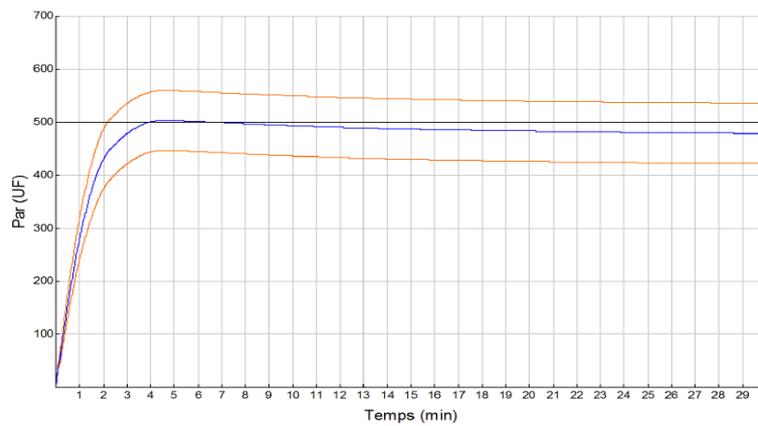


Fig. 13. Gráfico del Mixolab simulador (modo farino) de enzima (B).

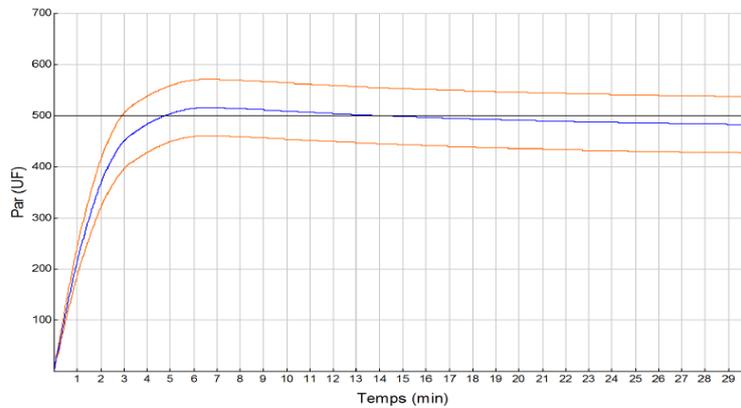


Fig. 14. Gráfico del Mixolab simulador (modo farino) de enzima (C).

Tabla 17. Valores obtenidos de la curva simulador (modo farino) para la caracterización fisicoquímica de la harina y de las formulas a probar.

Índice.	Harina manitoba	Enzima (A) 60 ppm	Enzima (B) 60 ppm	Enzima (C) 70 ppm.
Absorción %	62.2	62.8	62.8	62.5
Tiempo de desarrollo (min)	5.5	4.5	4.5	6.5
Estabilidad (min)	13.5	14.5	14.5	13.5

Los resultados que presenta la tabla 17 fueron obtenidos de los farinogramas que se realizaron para cada tratamiento. Los parámetros que muestran los farinogramas son: absorción de agua, índice de tolerancia, estabilidad y tiempo de desarrollo.

Absorción de agua.

La absorción de agua representa la cantidad de agua necesaria para alcanzar una consistencia de 500 Unidades Brabender (U.B.) en el amasado (Pantanelli, 1996).

Los valores de absorción de agua están entre 62.2% hasta 62.8%. En la Tabla 17 se observan los porcentajes de absorción de agua en cada tratamiento y se puede resaltar que, los tratamientos que presentan mayor porcentaje de absorción (62,8%) fueron los tratamiento (Enzima (A) 60 ppm y enzima (B) 60 ppm), es decir en los tratamientos que se logró obtener un buen porcentaje de absorción de agua lo cual se verá reflejado en el pan (volumen).

Tiempo de desarrollo

Este parámetro permite ver el tiempo para la formación óptima de la masa, lo cual es medido en minutos (Calaveras, 1996).

Los valores de tiempo de desarrollo están entre 4.5 % hasta 5.5%. En la Tabla 17 se observan los tiempos de desarrollo de cada tratamiento en la cual podemos observar que los tiempos de desarrollo disminuyen en todos los tratamientos en comparación del blanco lo cual es bueno debido a que la reducción del tiempo de desarrollo de la masa permitiría conseguir una mayor mecanización disminuyendo los tiempos de proceso de panificación.

Estabilidad.

La estabilidad es el intervalo de tiempo durante el cual la masa mantiene la máxima consistencia y se mide por el tiempo que la curva se encuentra por encima de 500 unidades Brabender (UB) (Calaveras, 1996).

Los valores de tiempo estabilidad están entre 13.5 min hasta 14.5 min. En la Tabla 17 se observan los tiempos de estabilidad de cada tratamiento en la cual podemos observar que los tiempos de estabilidad aumentan en los primeros dos tratamientos. En conjunto, las enzimas y aditivos en las concentraciones adecuadas dan como resultado una masa más estable.

7.3 Caracterización de la harina y formulas de estudio utilizando el equipo Alveograph PC.

Se realizó la caracterización de la harina manitoba y de las fórmulas de estudio, utilizando el equipo Alveograph PC en modo hidratación constante. Cuyos resultados se muestran a continuación.

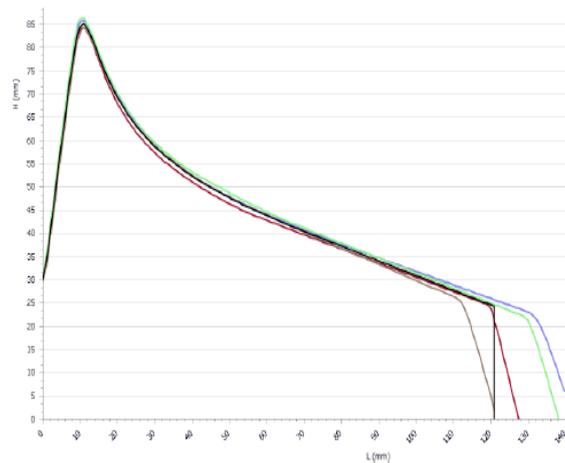


Fig. 15. Gráfico del Alveograph PC (hidratación constante) harina manitoba.

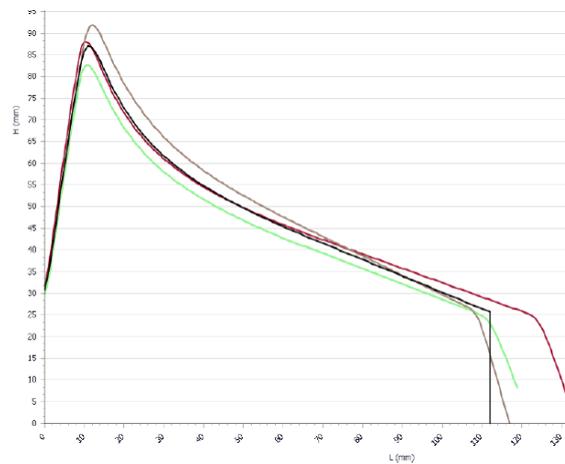


Fig. 16. Gráfico del Alveograph PC (hidratación constante) enzima (A) 60 ppm.

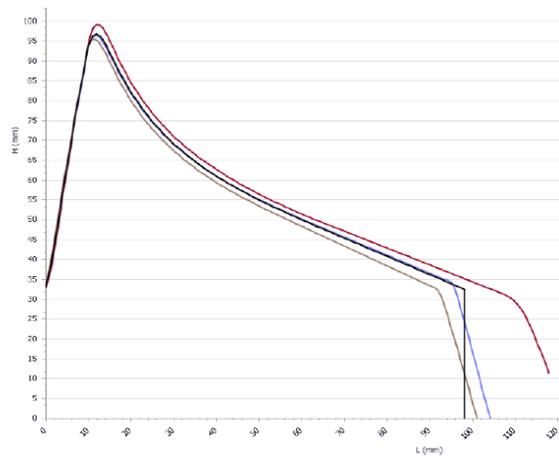


Fig. 17. Gráfico del Alveograph PC (hidratación constante) de enzima (B) 60 ppm.

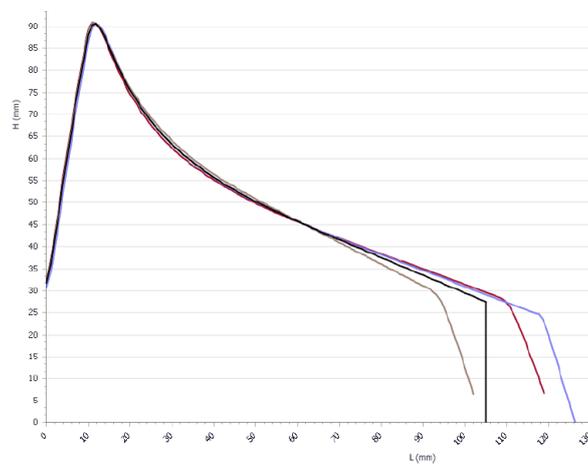


Fig. 18. Gráfico del Alveograph PC (hidratación constante) (C) 70 ppm.

Tabla 18. Valores obtenidos de la curva del Alveograph PC (hidratación constante) para la caracterización fisicoquímica de la harina y de las formulas a probar.

Índice	Harina manitoba	Enzima (A) 60 ppm.	Enzima (B) 60 ppm.	Enzima (C) 70 ppm.
P (mmH ₂ O)	94	96	107	100
L (mm)	121	111	97	105
G	24.4	23.4	21.9	22.7
W (10-4J)	368	363	371	355
P/L	0.78	0.86	1.1	0.95
P/G	3.85	4.10	4.89	4.41
le (%)	61.7	63.2	63.2	61.8

Los resultados que muestra la Tabla 18 fueron obtenidos de los alveogramas realizado para la muestra de harina Manitoba y para todos los tratamientos.

Fuerza panadera (W)

La fuerza panadera expresada en $J*10^{-4}$ indica el trabajo de deformación de la masa y representa de cierta manera a la cantidad y calidad del gluten presente. La acción de las α -amilasas influyen en el mejoramiento del gluten, en las proporciones adecuadas. Cuando intervienen glucosa y oxígeno produce un compuesto oxidante: el peróxido de oxígeno, esto produce una fuerte oxidación de la masa que repercute en el gluten aumentando la fuerza de este.

En la tabla 18 podemos observar como el tratamiento (enzima (B) 60 ppm) es el que presenta un mayor incremento en su fuerza a diferencia del resto de los tratamientos con respecto al blanco.

Equilibrio (P/L)

Es la relación que existe entre la resistencia que ofrece la masa al ser estirada y la capacidad para dejarse convertir en lámina o dejarse estirar.

Además, resulta importante tener un equilibrio ideal de las harinas puesto que estará en función del tipo de pan y sobre todo de la longitud de la barra. De esta forma en las masas duras la harina es más tenaz que extensible, por el contrario, en las masas blandas la harina es más extensible que tenaz (Moros, 2009).

Los resultados indican que los tratamientos que más se acerca al equilibrio (1.0) son (enzima (B) 60 ppm y enzima (C) 70 ppm) con valores de 1.1 y 0.95 respectivamente, los cuales presentan un mejor equilibrio con respecto al blanco.

Equilibrio (P/G)

Es la relación que guarda la altura sobre la base de la gráfica haciendo referencia propiamente a el área que existe bajo la curva, una harina, destinada a panificación directa, debe tener una relación entre el P y el G de 4, una mayor área bajo la curva, representa una mejor harina para panificación, más fácil de forjar y un mejor volumen del producto final.

Todos los tratamientos presentaron un incremento en el área bajo la curva, sin embargo, el mejor tratamiento con el valor mayor fue (enzima (B) 60 ppm) con un P/G de 4.89.

7.4 Pruebas de panificación

La comprobación de los resultados obtenidos con el Mixolab 2.0 con los protocolos estándar y simulador y el Alveograph PC (hidratación constante) se llevó a cabo mediante pruebas de panificación de las cuatro formulaciones para elaborar pan de caja. La tabla 19 detalla los parámetros controlados durante el estudio.

Tabla 19: Parámetros de control de las 3 repeticiones de las pruebas de panificación.

Referencia	Temperatura (°C)				Mezclado (min)			Fermentación			Altura (cm)
	Ambiente	Harina	Agua	Masa	Hielo (g)	1° (V)	2° (V)	Temperatura (°C)	% Hr	Tiempo de Fermentación (h)	
Blanco	25.9	24.2	3	26.5	800	3	17	38	80	01:49	3.5
Enzima (A) 60 ppm	25.9	24.2	3.2	26.5	800	3	17	38	80	01:44	3.5
Enzima (B) 60 ppm	25.9	24.2	3.2	26.8	800	3	17	38	80	01:40	3.5
Enzima (C) 70 ppm	26	24.4	3.2	26.5	800	3	17	38	80	01:46	3.5

Es de suma importancia controlar estos parámetros ya que de existir alguna diferencia muy grande entre ellos las pruebas perderían confiabilidad ya que las pruebas no habrían sido sometidas a las mismas condiciones, por ello se pone especial atención a la temperatura del agua ya que es un parámetro que podemos ajustar más fácilmente en comparación del resto, para esto se usó hielo en forma de escama así nos aseguramos de obtener masas con no más de 1°C de diferencia entre todas ellas, es así como nos aseguramos que los procesos biológicos y reológicos que ocurren en la masa no se vean afectados o favorecidos por la temperatura.

Las velocidades con las cuales se trabajó la batería de mezcladoras fueron 3 min en velocidad baja y 17 en velocidad alta, todas las masas fueron sometidas al mismo tiempo, si alguna hubiera recibido mayor tiempo de mezclado sus características reológicas serían distintas ya que ha mayor tiempo de mezclo mayor trabajo físico recibe el gluten lo cual si es demasiado romperíamos la proteína dejando como resultado una masa muy floja que no serviría para realizar las pruebas de panificación y por el contrario al recibir un menor acondicionamiento la red de gluten sería muy débil como para soportar la manipulación del forjado de los pastones de masa y solo se pegaría en la forjadora.

Las pruebas tuvieron un tiempo de inicio de la fermentación diferente esto es porque entre cada prueba se dejó un espacio de tiempo con el propósito de que todas las pruebas tuvieran el mismo tiempo de piso, ya que si corríamos las cuatro mezcladoras a la vez la última masa de cada repetición tendría un tiempo de piso mayor que la primera masa de cada prueba y esto también nos ocasionaría un diferencial en las características del producto terminado ocasionadas por una mala preparación.

Con la ayuda de la fermentadora Thermoscientific podemos asegurar que las condiciones se mantienen constantes 80% de humedad relativa y 38°C ya que incluso al abrir la fermentadora para meter y sacar pruebas, esta tiene un tiempo de recuperación de segundos así que las condiciones siempre se mantuvieron constantes, con la ayuda de un vaso controlador de fermentación de Calvin monitoreamos el volumen de los pastones y así nos aseguramos de meter las pruebas al horno a lo que se conoce como volumen constante que en este caso fue de 3.5 cm del vaso de Calvin.

El horno se utilizó a una temperatura de 220°C durante 25 minutos, colocando un molde por cada columpio para que la cocción se llevara a cabo de manera homogénea, una vez que salieron los moldes del horno, el pan se colocó sobre una base para decorar pasteles y así poder colocar una capa de sorbato de potasio por cada una de las caras del pan, cada pieza se colocó sobre charolas con pequeñas perforaciones en su base hasta que los panes alcanzaron una temperatura interna de 32°C y pudieron ser empacados.

7.5 pH y acidez total titulable de las masas y del pan

La formación de anhídrido carbónico y de ácidos orgánicos conduce a una bajada del pH y aun aumento de la acidez total titulable de la masa a lo largo de la fermentación, a pesar del fuerte poder tampón de las proteínas de la harina. Esta acidificación testimonia el buen desarrollo de la fermentación panaria. Su medida es a menudo efectuada como control de rutina, en las panaderías industriales.

Tabla 20: Valores obtenidos de pH y acidez total titulable del control y de las 3 repeticiones de las pruebas de panificación.

REFERENCIA	Día 1				Día 7		Día 15	
	Masa		Pan		Pan		Pan	
	pH	mL de NaOH						
BLANCO.	5.89±0.15	1.2±0.80	6.08±0.01	1±0.06	6.08±0.05	0.93±0	6.09±0.02	0.97±0.06
ENZ (A) 60 ppm	5.92±0.11	1.4±0.72	6.05±0.04	1.1±0.01	6.08±0.03	0.97±0.15	6.09±0.04	0.97±0.12
ENZ (B) 60 ppm	5.84±0.06	1.67±0.72	6.04±0.48	1.3±0.44	6.07±0.03	1.13±0.15	6.08±0.03	1±0.12
ENZ (C) 70 ppm	5.89±0.15	1.5±0.32	6.06±0.02	1.3±0.06	6.07±0.01	1±0.06	6.08±0.01	1±0.1

El pH interno de la célula de levadura es del orden de 5.6 a 5.8 y varía muy poco. Como lo sistemas enzimáticos implicados en el metabolismo de *S. Cerevisiae* son, en su conjuntos, intracelulares, esto explica porque la levadura es muy tolerante a las variaciones de pH del medio, en los límites comprendidos entre 2 y 8.

Para pH comprendidos entre 4 y 6 la actividad fermentativa de la levadura está en su óptimo. Estas condiciones se encuentran en la mayoría de las panificaciones con levadura en la que el pH al término de la fermentación final es del orden de 5 a 6.

En este caso el pH de nuestra masa al finalizar la fermentación está relacionado a la reología de la masa, ayudando a tener mayor extensibilidad y plasticidad en la misma, ya que el tener un pH ligeramente ácido fortalece el gluten pues la presencia de agentes oxidantes en la masa aumenta la formación de enlaces disulfuro en los extremos de las cadenas proteicas de glutenina que reaccionan entre sí, formando cadenas de gluten más largas y con ello confieren mayor extensibilidad a la masa, resultando en un beneficio durante el proceso de forjado haciéndolo más fácil (McGee, 2007).

Los resultados presentados en la tabla 20, nos indican que todos los tratamientos tuvieron un muy buen desarrollo durante la fermentación ya que el pH al final de esta, se encuentra entre los 5.8 y 5.9 de pH al estar en este rango el óptimo de la levadura, el producto final se verá favorecido, mejor sabor, olor y además se ha demostrado que estos valores de pH contribuyen a inhibir el crecimiento de bacterias y moho. A la vez que con estos valores de pH el propionato de calcio es más efectivo.

El pH de todas las pruebas no muestra diferencia significativa $P \leq 0.05$ por lo cual podemos decir que el desarrollo de la masa durante la fermentación fue el indicado y de igual manera el pH no habrá tenido un efecto negativo sobre las alfa-amilasas ya que como se ha mencionado anteriormente el pH es una de las principales causas de que la actividad enzimática disminuya.

El pH no es suficiente por si solo para evaluar la acidez real de una masa en razón del fuerte poder tampón de las proteínas de la harina. Se asocia aquí a menudo la Acidez total titulable, corresponde a la cantidad de NaOH 0.1 N necesaria para la neutralización hasta un pH de 6.6 de un batido de 15g de masa en 100 mL de agua destilada. Este método nos permite la regularidad de las fermentaciones.

Los resultados de acidez total titulable presentan diferencia significativa $P \leq 0.05$, lo cual sugiere que existe una mayor concentración de ácidos orgánicos en el producto final.

Los resultados de pH y acidez total titulable en días posteriores a la elaboración de los panes indican una relativa estabilidad de dichos valores sin embargo habría que trabajar por conseguir valores de pH más ácidos en el producto final ya que con los obtenidos en este experimento no podemos garantizar la inhibición de crecimiento de bacterias y moho.

7.6 Volumen específico del producto final

Tabla 21: Valores obtenidos de peso y volumen específico del control y de las 3 repeticiones de las pruebas de panificación.

Referencia	Peso (g)	Volumen (cc)	V/E	Dif. V/E (%)
Blanco.	660.667±2.08	2908.333±38.19	4.40±0.06	
Enzima (A) 60 ppm.	660.000±6	2925.000±25	4.43±0.07	0.67±1.27
Enzima (B) 60 ppm.	654.667±5.03	2975.000±50	4.54±0.07	3.2±2.19
Enzima (C) 70 ppm.	663.333±4.04	2933.333±28.87	4.42±0.04	0.45±1.83

Goesaert (2009) encontró que la adición de la enzima α -amilasa incrementa el nivel de azúcares fermentables, promoviendo la fermentación de la levadura y en consecuencia mayor expansión de la masa.

En los estudios realizados por Kim (2006), se demostró que al agregar la enzima α -amilasa obtenida de hongos, al pan, se tienen efectos positivos en el volumen específico. Błaszczak (2004) estudió el efecto de enzimas alfa-amilasas (bacteriana y fungal) en los cambios estructurales de la masa y el pan, midiendo el volumen específico y concluyeron que los panes adicionados con las enzimas presentaron mayor volumen específico con respecto al pan control. Por lo anterior se puede decir que al agregar enzima α -amilasa en la concentración correcta se tienen efectos positivos en el volumen específico. Ya que un exceso de α -amilasa podría ocasionar que si bien el pan resulta

con mayor volumen, al enfriarse, las paredes no soportarían el peso de la tapa ya que no sería un pan con una miga uniforme, si no que esta tendría muchas cavernas y muy grandes debido a que lo que podría estar ocurriendo es que el volumen haya aumentado conforme a la concentración de enzima α -amilasa, debido a que se generó una mayor cantidad de dextrinas, las cuales absorben la humedad y mantienen la masa humectada, evitando que se pierda agua durante el amasado, y al retener agua hasta llegar al proceso de horneado, se produzca una cantidad mayor de vapor generando una mayor expansión.

Los resultados muestran una diferencia significativa $P \leq 0.05$ en la tabla 21 podemos observar como en efecto los panes adicionados con las alfa-amilasas presentan un aumento el volumen siendo la enzima (B) la que presenta el mejor resultado en comparación con el blanco.

7.7 Actividad de agua (A_w) y porcentaje de humedad (%H)

Tabla 22: Valores obtenidos de la actividad de agua (A_w) y porcentaje de humedad (%H) del control y de las 3 repeticiones de las pruebas de panificación

Referencia	Día 1		Día 7		Día 15	
	A_w	%Humedad	A_w	%Humedad	A_w	%Humedad
Blanco	0.85±0.004	37.61±0.03	0.87±0.005	38.84±0.45	0.89±0.003	41.17±0.31
Enzima (A) 60 ppm	0.93±0.55	37.71±0.27	0.93±0.01	38.53±0.66	0.95±0.001	41.16±0.33
Enzima (B) 60 ppm	0.93±0.003	37.52±0.1	0.92±0.01	38.35±0.37	0.95±0.003	40.88±0.30
Enzima (C) 70 ppm	0.93±0.02	38.05±0.48	0.93±0.003	38.74±0.28	0.95±0.003	40.87±0.27

En general el pan es un producto que se deteriora rápidamente ya que presenta cambios en el sabor, pérdida de humedad de la miga y endurecimiento. (Satnley et.al., 2007; Ribotta & Tadini, 2009).

La mayor parte de los conocimientos en enzimología, se han adquirido experimentando en los medios donde la enzima y su sustrato se encuentran en disolución acuosa diluida, condiciones inexistentes en la panificación. Para la mayoría de las enzimas, tales como las alfa-amilasas, cuyos sustratos son hidrosolubles, la presencia de agua solvente es necesaria para permitir el contacto entre la enzima y su sustrato.

Las enzimas realizan un trabajo complementario para transformar una parte del almidón en azúcares fermentables, atacando los gránulos en ciertas zonas sensibles. Esta degradación de los gránulos, incluso si es limitada, favorece la penetración del agua haciendo que durante el horneado la cantidad de agua disponible sea mayor y el vapor de agua contenido en los alveolos se condense sobre las paredes y aumente la hidratación de la miga vecina.

Por otra parte algunos emulsionantes como los monoglicéridos son capaces de formar complejos con las cadenas de amilosa, adsorbiéndose primero en la superficie de los

gránulos de almidón, penetrando después bajo forma cristalina en la estructura helicoidal de la molécula de amilosa, liberada durante la cocción. La existencia de este complejo emulsionante amilosa, va a frenar la evolución de la estructura de gel del almidón y atrapar las moléculas de agua que no podrán migrar normalmente durante el endurecimiento. Así la humedad del producto se mantendrá y por ende la blandura del mismo no se verá afectada.

Como se puede observar en la tabla 22 los valores de A_w y de $\%H$ presentan diferencia significativa $P \leq 0.05$ influenciada por la concentración de alfa-amilasas en comparación al día 1 y 8 después de haber horneado el pan, esto quiere decir que las enzimas y los monoglicéridos son capaces de proporcionar las condiciones adecuadas para que el agua de la miga se mantenga por más tiempo lo que significaría una reducción en la migración de agua de la miga hacia la corteza manteniendo el pan humectado.

La disminución de A_w en el producto durante el tiempo de almacenamiento se debe a la migración de agua de la miga hacia la corteza del producto, debido a las diferencia entre la presión de vapor de la corteza y la miga, dando lugar a una disminución en el contenido de agua y por lo tanto en la A_w de las muestras (Gray et al., 2003) En nuestro caso nuestro producto difiere de esa observación en la primer semana la estabilidad de A_w y de $\%H$ de Humedad se le atribuyen a los efectos de las enzimas en combinación con los monoglicéridos, pero los datos obtenidos de estos dos parámetros indican un aumento en ambos casos, lo cual pudiera ser atribuible a la manipulación del producto ya que para obtener las muestras de pan era necesario sacar las piezas completas del empaque de tal manera que el pan absorbiera humedad del medio además de la que pudiera quedar dentro del empaque al estar manipulando el producto.

Lo anterior presenta grandes desventajas ya que los valores mínimos de actividad de agua para diferentes tipos de microorganismos son, los siguientes: bacterias $A_w > 0.90$, levaduras $A_w > 0.85$, hongos filamentosos $A_w > 0.80$. Esto muestra a nuestro producto muy susceptible a contaminación, pero el hecho de que el A_w permanezca constante nos refleja que el sistema mantiene un equilibrio en su microestructura y basta con procesarlos cuidadosamente después del horneado y elegir las condiciones de almacenamiento más adecuadas para evitar crecimiento de microorganismos de igual manera pudieras atribuir que a pesar de los elevados niveles de A_w y $\%H$ nuestro producto logro mantenerse libre mohos gracias a la efectividad del asperjado de sorbato de potasio una vez que las piezas pan era desmoldadas y no hasta que el producto estaba frío (Ribotta & Tadini, 2009).

7.8 Análisis de perfil de textura

La firmeza de la miga es el atributo de la textura que ha atraído más la atención en la estimación de la calidad de la misma, debido a la estrecha asociación que tiene con la percepción sensorial de frescura (Ordoñez & Osorio, 2013).

La Tabla 23 muestra los valores obtenidos de firmeza para los tres tratamientos podemos observar una diferencia significativa $P \leq 0.05$ en comparación con el blanco en la reducción de la firmeza de la miga, la combinación de alfa-amilasas y monoglicéridos sería la causa de dicha reducción, los resultados sugieren que el mejor tratamiento a través del paso de los días es la enzima (B), ya que la tendencia indica que la firmeza es menor el último día de la prueba.

Tabla 23: Valores obtenidos de firmeza (N) del control y de las 3 repeticiones de las pruebas de panificación.

	Día 1	Día 7	Día 15
Referencia	Firmeza (N)	Firmeza (N)	Firmeza (N)
Blanco	3.067±0.20	4.9±0.26	6.458±0.39
Enzima (A) 60 ppm	2.733±0.06	4.292±0.47	5.285±0.12
Enzima (B) 60 ppm	2.533±0.09	3.975±0.25	5.158±0.27
Enzima (C) 70 ppm	2.75±0.15	4.532±0.40	5.737±0.10

Derde (2012) menciona que la cristalización del almidón contribuye a la textura de la miga del pan, debido a que durante el enfriamiento, la amilosa se cristaliza y es co-responsable de la firmeza inicial de la miga de pan. Durante el proceso de gelatinización la amilosa es hidrolizada por la enzima alfa-amilasa, generándose así cadenas cortas (dextrinas), que participarán en las reacciones de Maillard y de caramelización. Con base a lo anterior, a mayor concentración de la enzima alfa-amilasa, se producirá mayor generación de dextrinas. En consecuencia al final del horneado, el contenido de amilosa retrogradada será menor, y esto se verá reflejado en una disminución de la firmeza de la miga del pan de caja.

Sin embargo los resultados indican que el tratamiento (Enzima C) cuya concentración es mayor a los demás tratamientos es la que mayor firmeza tiene en el producto final. Estudios anteriores han demostrado que el incremento total de la firmeza en la miga del pan de caja depende del volumen específico, las migas suaves corresponden a panes de caja con volumen específico más alto (Armero & Collar, 1998).

De acuerdo a O'shea et al. (2016), el uso de enzimas mejora el volumen del pan de caja y reduce la firmeza de la miga. Los autores estudiaron la influencia de la enzima alfa-amilasa y xilanasas en las propiedades del pan de trigo suplementado con harina de cebada de grano entero. Los resultados arrojados de la relación entre los parámetros de firmeza y volumen específico fue inversamente proporcional, a menor firmeza los panes de caja presentaron mayor volumen específico. Además, al paso del tiempo de almacenamiento, la firmeza de la miga con mayor concentración de la enzima alfa-amilasa, seguía siendo menor a la formulación sin la enzima alfa-amilasa. Lo cual concuerda con nuestros resultados, si bien el tratamiento de la enzima C es el de mayor concentración, los resultados del volumen indican que este mismo tratamiento es que menor volumen específico tiene en comparación al blanco, un menor volumen es indicativo de una miga más apretada y por ende una firmeza mayor de la misma.

Agentes antienviejamiento tales como enzimas y emulsificantes se utilizan en la fabricación del pan, ya que interfieren con la re-asociación de la amilosa, amilopectina, o ambos (Purhagen et al., 2011).

Los emulsionantes son ingredientes que funcionan tanto como estabilizantes de la masa (cuando el emulsionante interactúa con la fracción proteica de la misma), como suavizantes de la miga (cuando se acomplejan con el almidón gelatinizado durante el

horneado) (Goesaert et al., 2009). Han sido utilizados en la industria de la panificación desde hace más de 60 años con el objetivo de retardar el endurecimiento de la miga.

Este efecto se relaciona con la habilidad de los emulsionantes para formar complejos insolubles con la amilosa durante el horneado. Este complejo no participaría en la recristalización del almidón. Además, los emulsionantes reducen la absorción de agua por parte del almidón y su solubilización durante la gelatinización. De esta manera, la movilidad de los polímeros que forman parte del almidón se ve restringida, así como también la lixiviación de la amilosa, resultando en un menor grado de recristalinización durante el almacenamiento (Gray & BeMiller, 2003). La capacidad de los emulsionantes para retardar el endurecimiento de la miga está dada mayormente por su balance hidrofílico-lipofílico (HLB), y su potencial de ionización (Stampfli & Nersten, 1995) que influyen en su interacción con las proteínas y los gránulos de almidón intactos, o los polímeros que lo constituyen (amilosa y amilopectina).

Autores como Onyango et al. (2009) evaluaron el efecto de diferentes emulsionantes sobre el endurecimiento de la miga en panes libres de gluten elaborados a partir de almidón pregelatinizado de mandioca y harina de sorgo. Ellos encontraron que todos los emulsionantes disminuyeron el endurecimiento de la miga, y obtuvieron mejores resultados mediante la incorporación de DATEM (éster de monoglicéridos de ácido diacetil tartárico) y SSL (estearoil 2-lactilato de sodio). El SSL es una sal de sodio del éster del ácido esteárico con el ácido láctico. Posee un balance hidrofílico-lipofílico de 8,3. Por otro lado, el DATEM consta de éster del ácido acetil tartárico y un monoglicérido, y tiene un BHL de entre 8,5 y 9. Por tanto, grasas y emulsificantes retrasan la gelatinización al retrasar el transporte de agua dentro del gránulo de almidón debido a la formación de complejos entre la grasa y la amilosa durante el horneado.

CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

El uso de los equipos Mixolab 2.0 en ambos protocolos estandar-simulador (Chopin+) y Alveograph PC en la caracterización de la harina, como en el análisis de la funcionalidad de las tres enzimas, fueron herramientas con alta aplicabilidad en la predicción del comportamiento de la harina y de las formulas de estudio ya que los resultados obtenidos con el equipo corresponde a lo obtenido con las pruebas de panificación.

Las tres enzimas mostraron mejorar significativamente las características de la harina, como son la absorción de agua, el tiempo de mezclado, la estabilidad, los índices de viscosidad, amilasa y retrogradación, a si mismo, la tenacidad y extensibilidad de la masa tambien presentaron mejoras significativas.

El pH y la acidez total titulable de todas las muestras se mantuvieron constantes durante todo el tiempo de prueba, por lo cual podemos decir que si bien el pH y la acidez total titulable son factores durante el tiempo de fermentación para un buen desarrollo de la masa y el correcto funcionamiento de las enzimas, durante el periodo de almacenamiento estos dos parámetros no se vieron afectados.

Con respecto al Aw y el % de humedad, se observó que los tratamientos con enzimas lograron retener una mayor cantidad de agua durante el periodo de almacenamiento, siendo esto un factor determinante para que la miga se conservara fresca por mas tiempo.

El volumen específico se vio favorecido al presentar diferencia significativa con respecto al blanco, de los tres tratamientos el que obtuvo una mayor ganancia de volumen fue el que contenía la enzima B.

El perfil de textura reveló una disminución significativa en la firmeza de la miga, en todos los tratamientos con respecto al blanco, dicha firmeza se mantiene menor a través de los días en los tratamientos con enzimas a diferencia del blanco, siendo la enzima B la que presenta un menor aumento en dicha característica.

La aplicación de enzimas de origen fúngico contribuyen a la obtención de productos de panificación más frescos durante más tiempo y con mejores características fisicoquímicas, lo cual quedó demostrado ya que tanto las pruebas de panificación y las pruebas hechas por los equipos Mixolab y Alveograph PC sugieren diferencias significativas entre las tres pruebas con enzimas y el control, siendo el tratamiento con la enzima B el que arrojó mejores resultados en la mayoría de las pruebas hechas en esta investigación.

RECOMENDACIONES

9. RECOMENDACIONES

- Realizar pruebas de panificación con tiempos constantes para observar el posible efecto de estos ingredientes sobre la velocidad de la fermentación.
- Hacer pruebas de panificación ahora mediante el uso de masa madre con el objetivo de disminuir el pH y ATT del producto final y así observar si el uso de este método tiene impacto sobre la actividad de las α – amilasas.
- Mediante el uso del Mixolab 2.0 y Alveograph PC, probar estas mismas enzimas ahora con diferentes marcas y calidades de harinas para validar si tienen el mismo efecto.

REFERENCIAS

10. REFERENCIAS

- Aleixandre, J. (1996). *Procesos de Elaboración de Alimentos*. Valencia: Ed. U.P.V.
- Armero, E. & Collar, C. (1998). Crumb firming kinetics of wheat breads with anti-staling additives. *Journal of Cereal Science*, 28(2), 165-174.
- Badui, S. (2013). *Química de los alimentos*. Quinta Edición. México: Pearson Educación.
- Beltrán-Orozco, M., Rendón, J. & Gallardo-Velázquez, T. (2007). Cinética de las Características Físicas de Mantecadas Bajas en Grasa Almacenada en dos tipos de Material de Empaque durante su vida de Anaquel. *Información Tecnológica*, 18(3), 13-22.
- Błaszczak, W., Sadowska, J., Rosell, C., & Fornal, J. (2004). Structural changes in the wheat dough and bread with the addition of alpha-amylases. *European Food Research and Technology*, 219(4), 348-354.
- Bourgeois, C. & Larpent, J. (1995). *Microbiología Alimentaria II: Fermentaciones Alimentarias*. Zaragoza: Ed. Acribia.
- Bowles, L. (1996). Amylolytic enzymes. In: Baked goods freshness: Technology, evaluation and inhibition of staling. New York: Marcel Dekker.
- Caballero, P., Gómez, M. & Rosell, C. (2006). Bread quality and dough rheology of enzyme-supplemented wheat flour. *Journal of European Food Research and Technology*, 10(5), 221-225.
- Calaveras, J. (1996). *Tratado de panificación y bollería*. Primera Edición. España: Editorial ENESA.
- CHOPIN Technologies. (2016). Chopin Tribune: The Newsletter for flour producers and users. Mixolab Profiler. Recuperado el 8 de octubre de 2019 de: http://www.precision.com.sv/Chopin_Tribune_ES-OK_Oct10.pdf
- Codex Alimentarius. (2008). *Normas alimentarias/ aditivos alimentarios*.
- Conde- Petit, B. & Escher, F. (1994). Influence of starch lipid complexation on the ageing and baked goods and associated changes in textural properties. *Journal of Texture Studies*, 1(4), 272-477.
- Cortes, M. (2004). Cómo ha incidido la tecnología enzimática en el bienestar de la humanidad. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 8(1), 5-7.
- Cuq, B., Abecassis, J., & Guilbert, S. (2003). State diagrams to help describe wheat bread processing. *International Journal of Food Science Technology*, 38, 759-766.
- Derde, L., Gomand, S., Courtin, C., & Delcour, J. (2012). Characterisation of three starch degrading enzymes: Thermostable β -amylase, maltotetraogenic and maltogenic α -amylases. *Food Chemistry*, 135(2), 713-721.
- Dragsdorf, R. & Varriano-marston, E. (1980). Bread staling: X-ray diffraction studies on bread supplemented with amylases from different sources. *Cereal Chem*, 57, 3-10.

Drapron, R. & Godon, B. (1987). *Role of enzymes in baking: Enzymes and their role in cereal technology*. St. Paul: American Association of Cereal Chemists.

Dubat, A., Rosell, C. & Gallagher E. (2013). *Mixolab: A new approach to reology*. USA: AACC International. Recuperado el 24 de junio de 2019 de: <https://books.google.com.mx/books?id=vOQuDAAAQBAJ&pg=PA13&lpg=PA13&dq=interactions,+the+keys+to+cereal+quality+mixolab&source=bl&ots=8KMuqqCzEk&sig=vwWjOrFyAus9a0eObPq1z1eleTA&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwjvZzm1v3UAhUI7lMKHW8JAdsQ6AEIJTAA#v=onepage&q=interactions%2C%20the%20keys%20to%20cereal%20quality%20mixolab&f=false>

Dubois, M. (1994). *La Panificación*. España: Montagud Editores.

Durán, E., León, A., Barber, B. & Benedito, C. (2001). Effect of low molecular weight dextrans on gelatinization and retrogradation of starch. *European Food Research and Technology*, 212(2), 203-207.

Fakhretdinov, R. (2007). Liquid bread improver technology production and application for wheat. *Moscow state Univ. Of food production (Russian Federation)*, 25.

Goesaert, H., Slade, L., Levine, H., & Delcour, J. (2009). Amylases and bread firming an integrated view. *Journal of Cereal Science*, 50, 345-352.

González, I. (2018). *Sistemas Enzimáticos Aplicados en la Industria de la Panificación*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México.

Gray, J. & Bemiller, J. (2003). Bread Staling: Molecular Basis and control. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food safety*, 1-21.

Hamer, R., & Hosney, R. (1998). *Interactions, the keys to cereal quality*. St. Paul, USA: AACC.

Hellman, N., Fairchild, B. & Senti, F. (1954). The bread staling problem. Molecular organization of starch upon aging of concentrated starch gels at various moisture levels. *Cereal Chem*, 31:495.

Hleap, J. & Velasco, V. (2010). Análisis de las propiedades de textura durante el almacenamiento de salchichas elaboradas a partir de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). *Revista Bio Agro*, 8(2), 46-56.

Katz, J. (1928). *Gelatinization and retrogradation of starch in relation to the problem of bread staling*. New York: Ed. Chemical Catalog Co.

Kim, J., Maeda, T. & Morita, N. (2006). Effect of fungal α -amylase on the dough properties and bread quality of wheat flour substituted with polished flours. *Food Research International*, 39(1), 117-126.

Kulp, K. (1979). Staling of bread. *Am. Inst. Baking Tech. Bull.*, 1(8), 1-9.

León, A., Durán, E. & Benedito de Barber, C. (2002). Utilization of enzyme mixtures to retard bread crumb firming. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6), 1416-1419.

Lorraine, C. (2005). *Bakery and snaks*. Recuperado el 26 de agosto de 2019 de <http://www.bakeryandsnacks.com/news/ng.asp?id=63611ccfra-calibre-control-internati-quality-control>

Martínez, A. (2006). *Nuevos procesos en panificación*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, Estado de México.

McGee, H. (2007). *La cocina y los alimentos, enciclopedia de la ciencia y la cultura de los alimentos*. España: Editorial Debate.

Moore, M., Heinbockel, M., Dockery, P., Ulmer, H. & Arendt, E. (2006). Network formation in gluten-free bread with application of transglutaminase. *Cereal Chemistry*, 83, 28-36.

Mora, A. (2017). Estudio del efecto de la enzima α -amilasa en la microestructura de la pasta hojaldre para llevar a cabo una reducción de grasa en el proceso de laminado. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México.

Moros, C. (2009). Las Proteasas y su acción sobre el Gluten. Recuperado de: http://www.alimentariaonline.com/desplegar_notas.asp?did=327

O'Shea, N., Kilcawley, K. & Gallagher, E. (2016). Influence of α -amylase and xylanase on the chemical, physical and volatile compound properties of wheat bread supplemented with wholegrain barley flour. *European Food Research and Technology*, 1-12.

Onyango, C., Unbehend, G., & Lindhauer, M. (2009). Effect of cellulose-derivatives and emulsifiers on creep-recovery and crumb properties of gluten-free bread prepared from sorghum and gelatinised cassava starch. *Food Research International*, 42, 949-955.

Ordoñez, M. & Osorio, D. (2013). Características reológicas del pan de agua producto autóctono de Pamplona (Norte de Santander). *Bistua Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 10(2).

Pantanelli, A. (1996). *Parámetros Industriales de la Calidad del Trigo*. Recuperado de: http://www.aaprotrigo.org/calidad%20panadera/parametros_industriales_calidad_trigo.htm

Patel, B., Waniska, R. & Seetharaman, K. (2005). Impact of different baking processes on bread firmness and starch properties in breadcrumb. *Journal of Cereal Science*, 42(2), 173-184.

Pérez, M. (2017). *Aplicación del equipo Mixolab para la caracterización fisicoquímica de harinas de trigo y funcionalidad de ingredientes*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México.

Popper, L. (2010). *Enzimas, las mejores amigas de las harinas*. Alemania: Mühlenchemie GmbH & Co., Ahrensburg.

Purhagen, J., Sjöö, M. & Eliasson, A. (2011). Starch affecting anti-staling agents and their function in freestanding and pan-baked bread. *Food Hydrocolloids*, 25(7), 1656-1666.

Ribotta, P. & Tadini, C. (2009). *Alternativas tecnológicas para la elaboración y la conservación de productos panificados*. Primera edición. España: Universidad Nacional de Córdoba.

- Rodríguez, S., Fernández, Q. & Ayala A. (2005). Reología y textura de masas: aplicaciones en trigo y maíz. *Revista Ingeniería e Investigación*, 25(1).
- Roepcke, C. & Toledo, A. (2013). El rol de las enzimas en panificados. *Enfasis*, 19(8).
- Sánchez, L. (2018). *Evaluación de la sustitución de grasa hidrogenada por aceite de chía (salvia hispánica L), grenetina y emulsionante en las propiedades reológicas, microestructurales y contenido de ácidos grasos en panqué*. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México.
- Sánchez, A., Palacios, O., Batista, S., Díaz, Z. & Guerra, N. (2016). Simultaneous production of amylases and proteases by *Bacillus subtilis* in brewery wastes. *Braz. J. Microbiol. In proofreading*, 47(3), 665-74.
- Schiraldi, A. & Fessas, D. (2001). *Mechanism of staling: an overview*. New York: Vodovotz Y, editors.
- Sciarini, L. (2012). *Estudio del efecto de diferentes aditivos sobre la calidad y la conservación de panes libres de gluten*. Tesis de doctorado. Universidad Nacional de La Plata. República Argentina.
- Sluimer, P. (2005). *Principle of bread making, functionality of raw material and process steps*. St. Paul, USA.
- Smith, J., Daifas, D., El-Khoury, W., Koukoutsis, J. & El-Khoury, A. (2004). Shelf life and safety concerns of bakery products-a review. *In Cri*, 44(1), 19-55.
- Soto, R. (2009). *Programa de Investigación en Calidad de Trigo en el Instituto de Ciencias Agrícolas*. Recuperado el 20 de septiembre de 2019 de: <http://www.oeidrusbc.gob.mx/sispro/trigobc/Descargas/ProgramaInvetigacion.pdf>.
- Soto, T. (2019). *Estudio de la adición de lactato de sodio y potasio en el comportamiento reológico, características fisicoquímicas y texturales de batidos para panificación*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México.
- Stampfli, I. & Nersten, B. (1995). Emulsifiers in bread making. *Food Chemistry*, 52, 353-360.
- Szczesniak, A. (1975). General food texture profile revisited-Ten years perspective. *J. Texture Studies*, 6, 5-17.
- Tejero, F. (2009). *Las enzimas en la panificación. Asesoría técnica en panificación*. Recuperado de: <http://www.franciscotejero.com/tecnica/mejorantes/las%20encimas.htm>
- Valverde, K. (2016). *Estudio termodinámico del efecto de la enzima alfa amilasa adicionada en masa para elaborar pan de caja*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México.
- Willhoft, E. (1973). Mechanism and theory of staling of bread and baked goods and associated changes in textural properties. *Journal Texture Study*, 4, 291-392.

ANEXOS

11 ANEXOS

ANEXO 1. Imágenes fotográficas.



Figura A. Pesado de ingredientes.



Figura B. Preparación de la masa.



Figura C. Temperatura de la masa.



Figura D. Corte y pesado de los pastones.



Figura E. Forjado de los pastones.



Figura F. Molde listo para ingresar a la cámara de fermentación.



Figura G. Inicio de la fermentación.



Figura H. Final de la fermentación.



Figura I. pH y acidez total titulable de la masa al final de la fermentación.



Figura J. Inicio del horneo.



Figura K. Final del horneo.



Figura L. Desmolde de las piezas de pan.



Figura M. Aplicación de Sorbato de Potasio.



Figura N. Enfriado del producto final.



Figura O. Rebanado y empacado de las pruebas.