

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL**

**Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la  
Producción**

**“Desarrollo de un Aditivo Enzimático para extender la vida útil de los  
Productos de Panificación de larga duración. ”**

**TESIS DE GRADO**

Previo a la obtención del Título de:

**MAGISTER EN CIENCIAS ALIMENTARIAS**

Presentada por:

Clara De los Angeles Benavides Valero

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año: 2011

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por darme vida y salud para cumplir con este objetivo, a mi esposo, mi hija Keiko, mi hijo Yao y mi mama por su comprensión y apoyo en el desarrollo de este trabajo y muy especialmente a mis profesores el Msc. Luis Miranda y la Dra. Olga Sanchez Collazo por su colaboración y continua ayuda en la elaboración de esta tesis.

## **DEDICATORIA**

A MI ESPOSO

A MI HIJA KEIKO

A MI HIJO YAO

A MI MADRE

## **TRIBUNAL DE GRADUACIÓN**

MSc. Francisco Andrade S.  
PRESIDENTE  
DELEGADO DEL DECANO

MSc. José Antonio Suárez M.  
CO-DIRECTOR DE TESIS

MSc. Luis Miranda S.  
VOCAL

## **DECLARACIÓN EXPRESA**

“La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”

(Reglamento de Graduación de la Espol)

---

Clara de los Angeles Benavides V.

# RESUMEN

La siguiente tesis presenta el desarrollo de un aditivo a partir de mezclas de enzimas como son la alfa-amilasas maltogénica, xilanasas y celulasas, con el propósito de extender el tiempo de vida útil de los panes de larga duración. El estudio se realiza en la fórmula de un pan de esta característica conocido como "Paneton".

El trabajo da información sobre las características de las materias primas, el proceso tecnológico para la elaboración, los parámetros reológicos, físicos y sensoriales que caracterizan este tipo de panes y los aditivos usados comúnmente para la panificación en productos de larga duración.

Se presenta también el estudio experimental para encontrar las dosificaciones idóneas de la mezcla de enzimas, y plantea un diseño de experimento para el desarrollo del aditivo enzimático, al mismo tiempo que muestra la realización de las pruebas de panificación y realiza el estudio reológico mediante alveogramas, mixogramas, texturometría, pruebas sensoriales y microbiológicas que sustentan el desarrollo del aditivo.

El estudio presenta la validación estadística de las pruebas realizadas, desarrolla la formulación final y caracterización del aditivo enzimático y finalmente realiza el análisis de costo, con toda la información mencionada y analizada concluye y propone recomendaciones para la viabilidad del desarrollo del aditivo enzimático para panes de larga duración.

## ABSTRACT

The following thesis presents the development of an additive from mixtures of enzymes such as maltogenic alpha-amylases, and cellulases xilanas the purpose of extending the lifespan of long-lasting bread. The study was performed on the formula of a loaf of this feature known as "Paneton".

The work gives information about the characteristics of raw materials, the technological process for the production, rheological parameters, physical and sensory properties that characterize this type of breads and additives commonly used for baking in long-life products.

It also presents the experimental study to find the appropriate dosage of the enzyme mixture, and poses an experimental design for the development of enzyme additive, while showing the performance of the baking tests and rheological study performed by Alveogram, mixogramas, texturometría, sensory and microbiological testing which supports the development of the additive.

The study presents the statistical validation tests, developed the final formulation and characterization of enzyme additive and finally performs the analysis of cost, and with all the information analyzed concludes and makes recommendations to the viability of development of extending the lifespan of long-lasting bread.

# INDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN.....	II
ÍNDICE GENERAL.....	III
ABREVIATURAS.....	IV
SIMBOLOGÍA.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VI
ÍNDICE DE TABLAS.....	VII
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO 1	
1. GENERALIDADES.....	2
1.1. Panes. Definición y clasificación.....	2
1.2. Productos de Panificación de larga duración..Características reológicas y sensoriales.....	8
1.3. Tecnología y parámetros de proceso del Paneton.....	17
1.4. Aditivos aplicados en la elaboración del Paneton.....	23
CAPITULO 2	
2. ESTUDIO EXPERIMENTAL.....	25
2.1. Equipos y Métodos.....	26
2.2. Diseño del experimento para el desarrollo del Aditivo enzimático.....	32
2.2.1. Variables y Niveles para pruebas experimentales.....	32
2.2.2. Determinación de corridas experimentales.....	33
2.3. Pruebas de panificación.....	35
2.4. Estudio Reologico.....	38
2.4.1. Alveogramas.....	38
2.4.2. Mixogramas.....	39



2.5. Medición del volumen del pan.....	45
2.6. Estructura y suavidad de la miga.....	45
2.7. Estabilidad.....	46
2.8. Pruebas microbiológicas.....	47
CAPITULO 3	
3. ANALISIS DE RESULTADOS.....	48
3.1. Resultados y análisis estadístico de las pruebas reológicas.....	50
3.2. Resultados y análisis de evaluación sensorial.....	56
3.3. Correlación de resultados.....	61
3.4. Formulación final.....	62
CAPITULO 4	
4. DESARROLLO DEL ADITIVO ENZIMATICO.....	64
4.1. Formulación y Caracterización del aditivo.....	65
4.2. Proceso de elaboración del aditivo enzimático.....	71
4.3. Análisis de costos.....	72
CAPITULO 5	
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	74
APÉNDICES	
BIBLIOGRAFÍA	

## ABREVIATURAS

m	Metros
cm	Centímetros
cc	Centímetros cúbicos
kg	Kilogramo
mg	Miligramo
g	Gramos
mg/kg	Miligramo por Kilogramo
ppm	partes por millón
h	Hora
min.	Minuto
s	Segundo
N	Número
Máx	Máximo
°C	Grados centígrados
Min	Mínimo
P	Tenacidad
L	Extensibilidad
Nm	Newton metro

## SIMBOLOGÍA

%	Porcentaje
#	Número

## INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1.1 Diferentes tipos de pan.....	2
Figura 1.2 Pan francés.....	5
Figura 1.3 Pan de molde.....	6
Figura 1.4 Panes de larga duración. Paneton.....	8
Figura 1.5 Retrogradación de almidón.....	12
Figura 1.6 Principales atributos medidos en el pan.....	14
Figura 1.7 Problemas de fabricación del pan.....	15
Figura 1.8 Problemas típicos sensoriales.....	15
Figura 1.9 Mecanismo de acción en medición de sabor.....	16
Figura 1.10 Panetón.....	17
Figura 1.11 Etapas del proceso Panetón.....	18
Figura 1.12 Reposo de Gluten.....	19
Figura 2.1 Alveógrafo.....	27
Figura 2.2 Alveograma.....	27
Figura 2.3 Burbuja de alveografo.....	28
Figura 2.4 Mixógrafo.....	29
Figura 2.5 Fundamento medición textura .....	30
Figura 2.6 Camara de Fermentación.....	31
Figura 2.7 Alveograma.....	38
Figura 2.8 Ejemplo curva de mixograma.....	39
Figura 2.9 Mixograma patrón.....	41
Figura 2.10 Mixograma muestra A.....	42
Figura 2.11 Mixograma muestra B.....	43
Figura 2.12 Mixograma muestra C.....	44
Figura 2.13 Estructura de la miga.....	45
Figura 3.1 Mejor dosificación.....	49
Figura 3.2 Diagrama de cajas retrogradación.....	52
Figura 3.3 Diagrama de cajas texturometría.....	54
Figura 3.4 Diagrama de cajas suavidad.....	58
Figura 3.5 Diagrama de cajas resiliencia.....	60
Figura 3.6 Correlación Mixolab-Texturómetro.....	62
Figura 4.1 Función de enzima según temperaturas.....	66
Figura 4.2 Función de amilasa maltogénica.....	67
Figura 4.3 Esquematación de degradación por amilasa maltogénica.....	67
Figura 4.4 Esquematación de degradación por amilasa maltogénica II.....	68
Figura 4.5 Modo de acción de xylanasas.....	69
Figura 4.6 Modo de acción de celulasas.....	70
Figura 4.7 Diagrama de flujo elaboración aditivo.....	71

## INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1.1	Clasificación de pan especial por ingrediente.....6
Tabla 1.2	Tenacidad.....9
Tabla 1.3	Elasticidad.....10
Tabla 1.4	Relación P/L.....10
Tabla 1.5	Valor G.....10
Tabla 1.6	Valor W.....11
Tabla 2.1	Formulaciones Desarrolladas.....25
Tabla 2.2	Equipos para estudio experimental.....26
Tabla 2.3	Dosis a aleatorizar.....32
Tabla 2.4	Valores aleatorizados de formulaciones.....33
Tabla 2.5	Formulación muestra A.....36
Tabla 2.6	Formulación muestra B.....36
Tabla 2.7	Formulación muestra C.....37
Tabla 2.8	Formulación muestra patrón.....37
Tabla 2.9	Resultados y parámetros microbiológicos.....47
Tabla 3.1	Prueba de hipótesis distribución normal.....50
Tabla 3.2	Prueba de hipótesis medianas.....51
Tabla 3.3	Resultados de pruebas estadísticas.....51
Tabla 3.4	Resumen de datos texturometría.....53
Tabla 3.5	Resultados ANOVA texturometría.....53
Tabla 3.6	Resumen de resultados texturometría.....55
Tabla 3.7	Resultado de comparación múltiple texturometría.....55
Tabla 3.8	Resumen datos suavidad.....56
Tabla 3.9	Resultados ANOVA para suavidad.....57
Tabla 3.10	Resumen de datos de resiliencia.....59
Tabla 3.11	Modelo lineal general: resiliencia vs muestra.....59
Tabla 3.12	Dosis Escogida.....63
Tabla 3.13	Formulación de dosis escogida.....63
Tabla 4.1	Función de enzimas en el pan.....66
Tabla 4.2	Resumen análisis de costos.....72

## INTRODUCCION

Actualmente en la Industria alimenticia existe la necesidad de desarrollar aditivos funcionales que al mismo tiempo, que tengan calidad homogénea y produzcan resultados óptimos también minimicen desperdicios y disminuyan el deterioro del medio ambiente, por ello las enzimas están teniendo un rol importante en las formulaciones de alimentos, ya que con ellas se pueden desarrollar opciones competitivas que a la vez cumple con esta necesidad. La tecnología de panificación no está excluida de esta realidad y por ello es importante desarrollar nuevas alternativas como pueden ser los aditivos enzimáticos que sustituirían a los actuales ingredientes.

En la panificación moderna, el pan es el resultado de un proceso químico científicamente controlado, por ello la conservación de las características sensoriales de frescura y suavidad son determinantes en el desarrollo de las formulaciones, lo que las hace volverse más complejas, se diría que cada vez se usan más aditivos para mantener estas características, las enzimas son en ese momento un recurso viable para hacerlas más sustentables.

Para el desarrollo de este tipo de aditivos se debe contar con equipos, metodología y tecnología que permitan predecir el comportamiento reológico, físico y químico que a su vez se puedan validar con los atributos sensoriales deseados.

Por las razones expuestas anteriormente, este trabajo plantea el desarrollo de un aditivo enzimático (mezcla de enzima: alfa-amilasa maltogénica, xilanasas, celulasas) para productos de panificación de larga duración que permita prolongar el tiempo actual de este tipo de panes de 4 a 6 meses de vida en percha y muestra todo el desarrollo y su aplicación en un pan de larga duración conocido como Paneton.

# CAPÍTULO 1

## 1. GENERALIDADES.

### 1.1. Panes. Definición y Clasificación.

Haciendo referencia al texto “Nuevo tratado de Panificación y Bollería, Jesús Calaberas, año 2004 ”. El pan es el 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 propios de la fermentación panaria, como el *Saccharomyces cerevisiae*.

Es a partir de esta definición que se establecen dos categorías de productos: pan común y pan especial, definidos a continuación:



Figura 1.1: Diferentes tipos de Pan

**Pan Común:** Es el elaborado con harina de trigo y al que solo se le pueden añadir los coadyuvantes tecnológicos y aditivos autorizados para ese tipo de pan. Las materias primas harina, agua, levadura y sal cumplirán con lo dispuesto en sus vigentes Reglamentaciones Técnico-Sanitarias de cada país.

Dentro de lo que respecta al pan común existen dos tipos muy diferenciados, en función de la textura de la miga, ya sea dura y compacta; o bien, blanda, alveolada y esponjosa. Lo cuales se definen a continuación:

- 1. Pan bregado, de miga dura, español o candeal.** Es el obtenido mediante elaboración en la que es indispensable el uso de cilindros refinadores. Se consideraran pan bregado a todas aquellas variedades regionales elaboradas a partir de una masa de pan candeal, con las distintas denominaciones que cada una adopta, como la telera, lechuguino, Fabiola, pan de cruz, y otras existentes.
- 2. Pan de flama o miga blanda:** Es obtenido con una mayor proporción de agua que el pan bregado y que no precisa normalmente del refinado con cilindros. Se consideraran pan de flama todas aquellas especialidades regionales y otras tales como la baguette, la chapata, el pan francés, el payes, el gallego, y otras existentes elaboradas a partir de una masa de pan de flama, con las distintas denominaciones que cada una adopta.

**Pan Especial:** Es aquel pan no incluido en la definición de pan común, que reúna alguna de las condiciones siguientes:

**Por su composición:**

1. Que se haya incorporado cualquier aditivo y/o coadyuvante tecnológico de la panificación, autorizados para panes especiales, tanto a la masa panaria como a la harina de acuerdo a la legislación vigente.
2. Que se haya utilizado como materia prima, harina enriquecida.



3. Que no lleve microorganismos propios de la fermentación, voluntariamente añadidos.
4. Que se haya añadido cualquier ingrediente como son: Gluten de trigo seco o húmedo, salvado o grañones; Leche entera, concentrada, condensada, en polvo, total o parcialmente desnatada, o suero en polvo; Huevos frescos, refrigerados, conservados u ovoproductos; Harinas de leguminosas (soja, habas, guisantes, lentejas y judías) en cantidad inferior al 3% en masa de harina empleada, sola o mezclada; Harinas de malta o extracto de malta, azúcares comestibles y miel; Grasas comestibles; Cacao, especias y condimentos; Pasas, frutas u otros vegetales naturales, preparados o condimentados.

Todos ellos deberán cumplir las disposiciones que les sean de aplicación.

**Por su formato:**

Es aquel que aunque sea pan común por su composición, incluido los aditivos, tiene un formato especial que precisa de un procedimiento de elaboración y acabado no susceptible de mecanización en todas sus fases, por exigir la intervención de mano de obra en cada pieza individualizada.

**Duración del pan especial:**

Los panes especiales se clasificarán por su duración en:

1. De consumo normal en el día; los que habitualmente se consumen antes de las 24 horas posteriores a su cocción.
2. De mayor duración; los que por sus especiales características de elaboración tecnológica y envasado, tienen un periodo apto para el consumo, superior a tres días.

El pan especial puede recibir las siguientes denominaciones prohibiéndose cualquier denominación que induzca a error al consumidor, algunos de ellos son:

**Pan integral:** Es el elaborado con harina integral. Se define la harina integral como el producto resultante de la molturación del grano del trigo, maduro, sano y seco, industrialmente limpio, sin separación de ninguna parte de él, es decir, con un grado de extracción del cien por cien.

**Pan con salvado:** Es el elaborado con harina a la que se le añade salvado en el momento de amasado en una cantidad mínima de 200 gramos de salvado por kilogramo de harina.

**Pan de Viena y pan Francés:** es el pan de flama elaborado a base de masa blanda, entre cuyos ingredientes deben entrar, además de los básicos, azúcares, leche o ambas a la vez, en la cantidad necesaria para una buena práctica de fabricación.



**Figura 1.2: Pan Francés**

**Pan glutinado:** Es el que se ha elaborado con harina de trigo y gluten de trigo en proporciones tales que el contenido de proteínas (N x 5,7) referido a materia seca del producto final, es igual o superior al 25%.

**Pan al gluten:** Es el que se ha elaborado con harina de trigo y gluten de trigo en proporciones tales que el contenido de proteínas (N x 5,7) referido a materia seca del producto final, es igual o superior al 15% y menor del 25%.

**Pan tostado:** Es el que, después de su cocción, es cortado en rebanadas y sometido a tostado y envasado.

**Biscote:** Es el que, después de su cocción en moldes con tapa, es cortado en rebanadas y sometido a tostado y envasado.

**Pan de huevo, pan de leche, pan de pasas, pan con pasas y pan de miel:** Son aquellos elaborados con masas panarias a las que se han incorporado los ingredientes de los que toman su nombre, en las cantidades siguientes:

**Tabla 1.1 Clasificación de pan especial por ingredientes**

Denominación	Mínimo (gramos)	Máximo (gramos)
Pan de huevo	125	200
Pan de leche (en sólidos de leche)	50	100
Pan de pasas	500	600
Pan con pasas	100	500
Pan de miel	100	125

**Fuente:** Jesús Calaberas

Las cantidades anteriores están requeridas a gramos por kilogramo de harina.

**Pan de molde o americano:** es aquel que tiene una ligera corteza blanda y que para su cocción ha sido introducido en molde.



**Figura 1.3: Pan de Molde**

**Pan enriquecido:** es aquel en cuya elaboración se han incorporado harinas enriquecidas o en el que se han empleado sustancias enriquecedoras, según lo dispuesto en la legislación vigente.

**Pan rallado:** es el producto resultante de la trituración industrial del pan. Se prohíbe fabricarlo con restos de pan procedentes de establecimientos de consumo.

Por razones de sus ingredientes adicionales, además de su forma externa o el procedimiento de su elaboración son también panes especiales los siguientes: “pan bizcochado”, “pan dulce”, “pan de frutas”, “palillos”, “bastones”, “grisines”, “pan ácimo” y otros.

Adicionalmente el pan también puede trabajarse en producción actualmente como productos semielaborados que a su vez pueden ser clasificados como pan precocido, masa congelada y otras masas semieleboradas.

**Productos semielaborados** que se pueden clasificar en:

- 1. Pan precocido:** es la masa definida como pan común o especial cuya cocción ha sido interrumpida antes de llegar a su finalización, siendo sometida posteriormente a un proceso de congelación o a cualquier otro proceso de conservación autorizado.
- 2. Masa congelada:** es la masa definida como pan común o especial que habiendo sido o no fermentadas y habiendo sido o no formadas las piezas, han sido posteriormente sometidas a un proceso de congelación.
- 3. Otras masas semielaboradas:** serán las definidas como pan común, o especial habiendo sido o no fermentadas y habiendo sido o no formadas las piezas, han sido posteriormente sometidas a un proceso de conservación autorizado, distinto de la congelación, de tal manera que se inhiba, en su caso, el proceso de fermentación.

## 1.2 Productos de Panificación de larga duración. Características físicas, reológicas y sensoriales.



Figura 1.4: Panes de larga duración. Paneton.

Cuando se refiere a panificación de larga duración se habla de los tipos de panes en que su tiempo de vida no es la misma del pan común, es decir, se refiere a los panes especiales a los que por la acción de los coadyuvantes tecnológicos y aditivos su tiempo de vida útil sobrepasa los 3 días.

Entre los panes de larga duración que han sido modificado la receta común del pan, se encuentra el Pan de Pascua, Panetón o Panettone, este tipo de masa como se menciona anteriormente se le ha añadido otro tipo de ingredientes como lo son el azúcar, huevos, frutas cristalizadas, frutos secos y en algunas ocasiones hasta chispas de chocolate. Ingredientes que permiten de algún modo bajar la Actividad de agua ( $A_w$ ), y con el uso de un buen aditivo permitir emulsificar la masa y alargar el tiempo de vida. Todo esto con la finalidad de impedir la retrogradación del almidón tempranamente.

### Características reológicas:

En cuanto a las propiedades reológicas de los panes de larga duración, están directamente relacionadas con las características iniciales que son medidas en la masa (la harina que se mezcla con el agua forma el gluten y se transforma en una masa con propiedades viscosas, elásticas y plásticas. Estas propiedades se derivan de la estructura coloidal de la masa).

La consistencia o movilidad de la masa está directamente relacionada a su contenido de agua. Las propiedades físicas de la masa se derivan principalmente de la interacción de dos estados de materia; líquido y sólido. Es así que la masa presenta la plasticidad que combina los atributos de ambos: fluídos y sólidos, elasticidad, atributo de los sólidos, y la viscosidad que es una característica de los líquido. Podemos decir que la masa es un material viscoelástico.

Gracias a estas propiedades se pueden evaluar sus características reológicas mediante equipos como el farinógrafo, extensógrafo, alveógrafo entre otros.

Así por ejemplo la tenacidad, elasticidad y extensibilidad y los principales atributos que se miden reológicamente en las masas de se miden en el alveógrafo como los siguientes valores:

**Valor P:** Expresa la tenacidad y mide la resistencia que opone la masa a la rotura. Se presenta en el alveograma, equipo del cual se hablara mas extendidamente en el siguiente capítulo, por la altura de la curva expresada en milímetros.

**Tabla 1.2 Tenacidad**

>60	Muy tenaz
50 – 60	Tenaz
35 – 50	Normal
25 – 35	Limitada tenacidad
<25	Baja tenacidad

**Fuente: Jesús Calaberas**

**Valor L:** Expresa la extensibilidad y mide la capacidad de la masa para ser estirada, indicando su elasticidad. Se presenta por la longitud de la abscisa o base de la grafica en milímetros.

**Tabla 1.3 Elasticidad**

>115	Muy extensible (desarrollada ext.)
90 – 115	Buena extensibilidad (elevada)
70 – 90	Débil o Limitada extensibilidad
<50	Baja extensibilidad

Fuente: Jesús Calaberas

**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, fabricación de pastas, etc.).

**Tabla 1.4 Relacion P/L**

De 1.5 a 2 para trigos mejorantes (W>250)
De 0.8 a 1.5 para trigos de elevada fuerza (W de 200 a 250)
De 0.6 a 0.8 para trigos de fuerza (W de 150 a 250)
De 0.4 a 0.6 para trigos de media fuerza (W de 90 a 150)
De 0.3 a 0.4 para trigos flojos (W < 90)

Fuente: Jesús Calaberas

**Valor G:** Llamado grado de hinchamiento (volumen de la masa), indica la amplitud de la harina para dar un pan bien desarrollado. Se clasifica según el índice de dilatación.

**Tabla 1.5 Valor G**

>26	Excesiva
23 – 26	Elevada
20 – 23	Normal – Correcta
18 – 20	Limitada
16 – 18	Baja
<16	Muy Baja

Fuente: Jesús Calaberas

**Valor W:** expresa la fuerza panadera e indica el trabajo necesario para deformar una lámina de masa empujada por aire hasta su rotura. Se representa por la superficie de la curva del alveograma.

**Tabla 1.6 Valor W**

>250	Fuertes o Mejorantes
200 – 250	Gran Fuerza
150 – 200	Media fuerza
90 – 250	Flojas
< 90	Muy Flojas

**Fuente: Jesús Calaveras**

**Degradación:** indica la pérdida de las cualidades plásticas y expresa el debilitamiento de la masa durante el reposo. En ciertos casos, pérdidas de g (grado hinchamiento) manifiestan una maduración del gluten.

Todos estos índices para medir la reología de las masas según Jesús Calaveras, están muy relacionados entre sí, por lo que, para enjuiciar un trigo, una harina, una masa panadera, el valor de un solo índice debe ser tomado con ciertas reservas.

$$W = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100$$

$W_1$ = Valor a los 28 minutos

$W_2$ = Valor a las 3 horas.

### **Características físicas y sensoriales.**

Las principales características físicas y sensoriales que deben considerarse en el proceso de panificación son: Volumen y Forma, Estructura y recuperación de la miga, Olor, Color, Textura, Sabor y Suavidad.

**Volumen:** Una de las principales cualidades del Paneton es que posea un buen volumen, es sin embargo uno de los atributos físicos más determinantes a la hora de la compra por el consumidor. Lo más común encontrar en las bibliografías es el que por lo general el volumen debe de ser el doble del inicial antes del horneado y siempre relacionarlo con el tamaño adecuado del pan. Realmente hay que aclarar

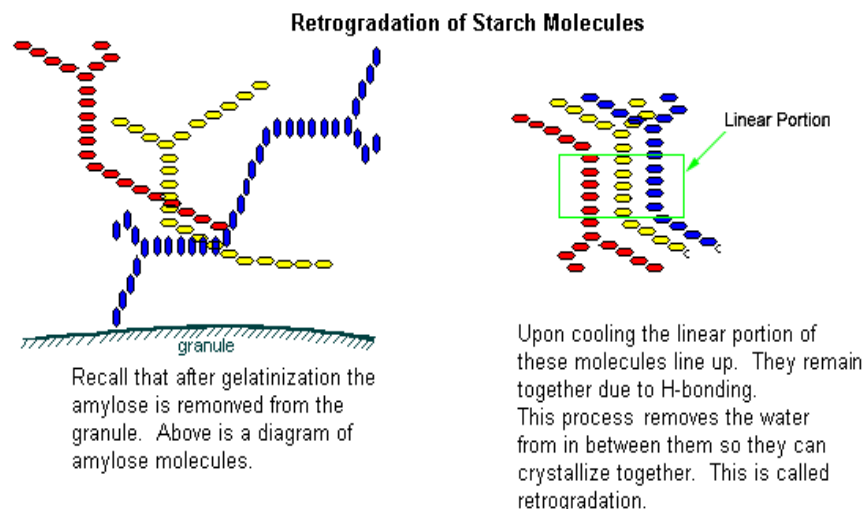


que no se pretenden grandes volúmenes a la hora de hacer un Paneton, ya que lo que produciría son panes huecos o vacíos y realmente como un pan de buena calidad debe situarse en su punto medio.

Aunque sí existen por ejemplo algunos otros aspectos, como cuando el pan entra en el horno con un volumen exagerado la corteza es más blanca, por el contrario si el volumen es menor, el colorido de la corteza es más acentuado.

También el contenido en azúcares se ve modificado si el pan entra al horno con mucho volumen, tiene menos azúcares que si por el contrario está menos fermentado. Se puede decir entonces que el pan menos fermentado se reviene más que otro con mayor volumen de fermentación.

### Retrogradación de almidón.



**Figura 1.5: Retrogradación de almidón**

La retrogradación está directamente relacionada con el envejecimiento del pan objeto de esta tesis; originalmente se pensaba que la modificación de este alimento se debía a la facilidad de la amilosa para retrogradar y formar zonas cristalinas, pero posteriormente se encontró que también la amilopectina ejerce un efecto decisivo.

Durante el cocimiento del pan parte de la amilosa se difunde fuera del gránulo y retrograda en el momento de su enfriamiento, de tal manera que los restos de gránulos (ahora ricos en amilopeptina) se ven rodeados por moléculas del polímero lineal; se considera que el envejecimiento se debe básicamente a la asociación de las cadenas de amilopeptina que permanecen en el gránulo hinchado después de haber perdido parte de la amilosa.

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.

**Color:** El color de la corteza se desarrolla durante la etapa de la cocción del pan y está asociado a las reacciones de Maillard y de caramelización, que producen compuestos que afectan al color y al "flavor" (aroma) del pan. Mientras que el color de la miga es un blanco crema o ligeramente amarillo, que en parte está relacionado a la oxidación de los pigmentos carotenoides durante el amasado.

**Elasticidad y aptitudes de amasado:** La intensidad (velocidad de la amasadora) y la duración del amasado, son dos factores muy importantes en la determinación del color de la miga. Cuanto más trabajo se da a la masa, mayor oxigenación se producirá en la masa, y mayor degradación de los pigmentos de la harina, blanqueándose las migas resultantes, y con una pérdida notable de aroma y sabor.

**Textura:** Dentro de las características más notables de un Paneton además de la suavidad se encuentra la sedosidad del mismo, sin embargo deberá poseer firmeza y no debe ser desmoronable ni pegajoso.

La corta vida útil del pan y la pérdida de frescura de la miga está fundamentalmente asociada con la evolución de dos parámetros de textura: el incremento de firmeza y pérdida de elasticidad. La textura de la miga del pan está relacionada con la cantidad de agua añadida a la masa y con el posible empleo de harinas especiales en el proceso, pero los factores más determinantes son la cantidad y la calidad de la proteína.

Al hablar de aprobación de características físicas, estamos indirectamente refiriéndonos en parte a cumplir con las cualidades sensoriales del producto, esto no significa que entran todos los sentidos, ya que las aprobaciones físicas según la publicación N°15 de Grupo Panera se enfocan únicamente en parámetros visibles, táctiles y auditivos. A continuación una de los problemas relacionados con los aspectos físicos del pan

Corteza	Miga	Forma	Tamaño
arrugada	alveolo abierto y largo	asimétricos	bajo volumen
con ampollas	color no uniforme	base cóncava	encogimiento
desprendimiento	con hueco	cintura en pan de molde	hojaldre poco desarrollo
falta de greña	puntos blancos	Cintura y cabeza hundida en panetón	panetón pequeño
gruesa		desgarrados	
manchas marrones		formación plana	
oscura			
porosa			

**Figura 1.6: Principales atributos medidos en el pan**

Los problemas planteados y relacionados con los aspectos físicos del pan, son producto precisamente del desconocimiento de la función de cada una de las materias primas y de la interacción de las mismas en los procesos, así como el entender la esencia de los mismos. Es así que se podrían obtener los siguientes resultados en el proceso de fabricación por un desconocimiento de lo resumido anteriormente.

Proceso de Fabricación
Colapso de la masa en el fermentado
Colapso del pan
Contracción del pan en el molde en el enfriado
Desgarramiento durante horneado y fermentado
Desplazamiento completo de la masa en el molde sin forma
Empirismo de técnicos y profesionales
Fallas en el control de los procesos (amasado, sobado, fermentación y horneado)
Falta tolerancia en la fermentación
Poca absorción de agua (rendimiento)
Poca tolerancia
Standardización de Pesos y Medidas
Variabilidad de calidad de las harinas

**Figura 1.7: Problemas en el proceso de fabricación del pan**

Con lo que respecta al ámbito sensorial hacen referencia a lo siguiente:

Sabor	Olor
ácidos	ausencia de olor
ausencia de sabor	rancidez
chiclosos	
duros	
grasosos	
resacos	

**Figura 1.8: Problemas típicos sensoriales**

Las propiedades organolépticas aparte de satisfacer en parte a los sentidos del consumidor, juegan un papel importante en la aceptación y de la adquisición del mismo. Como se menciona existen también problemas con lo que respecta al sabor, olor y por ende al aroma; el sabor, que en realidad es un mecanismo más

complejo del que podamos imaginar y gracias a nuevas herramientas disponibles para medirlo como lo es el análisis sensorial y olfatómetros, permiten a la industria identificar la influencia de sus capacidades técnicas, los procesos empleados y los ingredientes utilizados en la pieza de pan que sale de sus hornos.

**Sabor del Pan:** Hacen falta todos los sentidos para que podamos identificar subjetivamente por cierto, el sabor del pan que consumimos. Entre todo esto la fermentación juega uno de los papeles más importantes ya que es ella quien conduce a la producción de las moléculas aromáticas, tales como las que todo el mundo reconoce; las cuales están presentes en la panificación y el sabor característico que se desarrolla es prueba que dicho proceso fue llevado a cabo correctamente. Como se mencionó anteriormente en la fermentación se produce CO<sub>2</sub> y Etanol debido al metabolismo mismo de las bacterias y levaduras mismas. Paralelamente se liberan moléculas de sabor, cuya cantidad varía en función a:

- Tipo de harina y otros ingredientes, en el caso del Paneton es sin duda alguna la variedad de frutas confitadas, huevos y la cantidad de azúcar apropiada para la masa de este tipo de pan dulce.
- El amasado
- La absorción de agua
- Tiempo y temperatura de fermentación

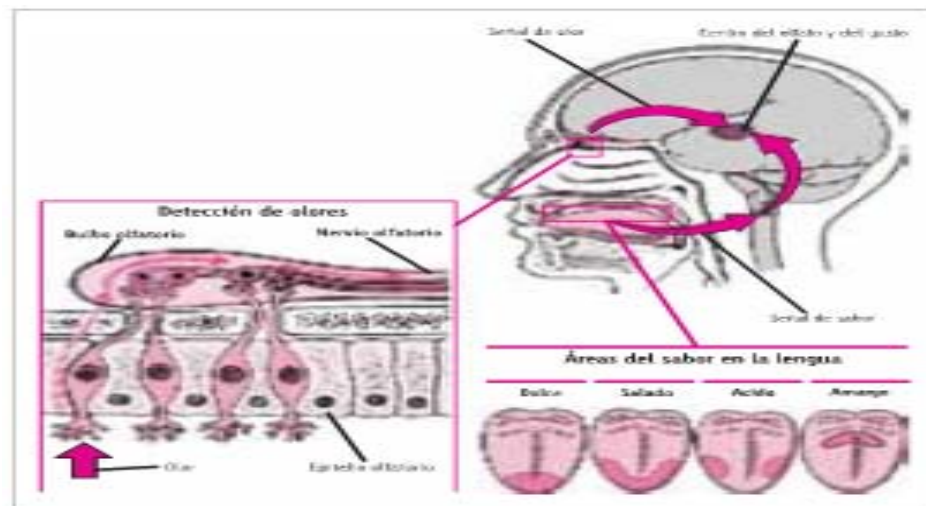


Figura 1.9: Mecanismo de acción en medición de sabor. Grupo Panera N15

**El aroma del pan:** los aspectos que determinan la producción y conservación de los aromas peculiares del Panetón y otros tipos de panes son fundamentalmente los siguientes:

- La sal y el azúcar tienen un papel importante en la producción de ese aroma irresistible (ya sea que el pan sea dulce o salado).
- La fermentación de las levaduras
- La caramelización en la corteza.

El aroma se forma durante el proceso de fermentación y dentro de la cocción se va perdiendo, esto es a que los azúcares reductores presentes en las masas reaccionan con los aminoácidos libres producidos por las levaduras, dan lugar a las reacciones Maillard que originan la coloración marrón de la corteza y también se produce a su vez compuestos carbonilos altamente aromáticos que proporcionan al pan su aroma característico. La tendencia de elaborar pan de poca cocción para pasar la llamada “prueba de estrujado” conduce consecuentemente a la obtención de panes insípidos.

Adicionalmente existen aromas agregados a estos tipos de panes, como lo son la vainilla, chocolate, especias, anís, etc.

### 1.3. Tecnología y parámetros de proceso del Paneton



Figura 1.10: Panetón

Como se ha mencionado anteriormente, la masa del Panetón es un poco más compleja en el número de ingredientes que se distinguen de los otros productos de panificación, sin embargo no por ello cambia la idea fundamental de cualquier procedimiento de un pan común.



**Figura 1.11: Etapas de proceso Paneton Fuente: C.-Benavides, 2011**

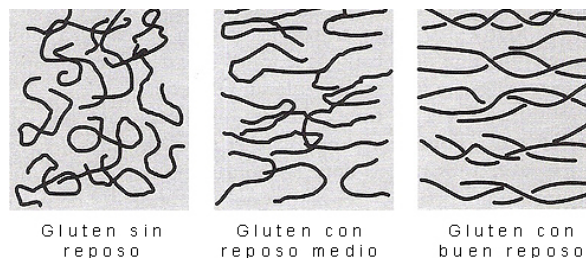
### Descripción de las etapas:

**Recepción de materia prima:** Se recibe la materia prima, se realiza la inspección visual y organoléptica cuando corresponda, se anotan la fecha, lotes, cantidades, tipos y proveedores como así también observaciones correspondientes al estado general de conservación de las mismas. Este proceso dura aproximadamente 10 minutos.

**Mezclado:** Se procede a hacer una mezcla uniforme con todos los ingredientes más el agua, a excepción de las frutas cristalizadas y frutos secos, luego se revuelve hasta que se transforme en una pasta suave.

**Amasado:** Como se menciona anteriormente el objetivo de esta parte es obtener una masa suave a velocidad media durante aproximadamente 10-15 minutos. Verificar que la masa posea la red de gluten formada, esto es a lo que se llama una masa con propiedades de elásticas. Antes de terminar el amasado y obtener las características deseadas en la masa, permitir que la amasadora revuelva las frutas confitadas, luego de esto podrá darse por terminado este paso.

**Reposo:** Son aproximadamente 5 minutos que la masa necesita de un reposo adecuado, con esto se consigue una susceptibilidad a que la masa sea modelada y más maleable al hecho de que se obtiene un gluten con mejores propiedades, ya que en este proceso se infla lo suficiente para una mejor manipulación de la misma.



**Figura 1.12 Reposo del Gluten**



Como se aprecia en la primera imagen, el gluten se encuentra disperso en todos lados sin un enlace predeterminado. Si usamos la masas inmediatamente, tendrá un difícil trabajo y se complicaría o malograría las masas. Al observar la tercera imagen se distingue que el gluten se encuentra estirado, es decir, tuvo tiempo de formar enlaces entre la glutenina, gliadina y el agua. En palabras simples se logra a que se relaje la elasticidad de la masa al pasar el tiempo.

**Modelado:** En este paso lo que se hace es dividir la masa en fragmentos adecuados, aproximadamente 600 gramos, los cuales son pesados en una balanza. Es importante que la temperatura de la masa se mantenga dentro del rango de 20 a 25 °C. El modelado de la masa se lo hace realizando movimiento circulares en la masa de tal forma que generamos una bola no pegajosa de masa. Este proceso dura aproximadamente entre 10 minutos.

**Moldeado:** En este paso lo único que se realiza es el colocar la masa antes modelada en unos pirotos característicos del Panetón para luego hacerlos fermentar dentro de ellos.

**Fermentación:** Como es de conocimiento la fermentación es el mecanismo indispensable para la fabricación del pan, este proceso es anaeróbico, por lo que se obtienen mejores resultados si se posee una cámara especial de fermentación, con una temperatura ideal entre 26 a 27 °C, en donde se coloca el pan con una alta humedad para permitir que la masa no se reseque demasiado, y crear un ambiente adecuado de desarrollo para la levadura, en donde degradara el azúcar a ácido pirúvico, y este mismo se convierte luego en CO<sub>2</sub> y etanol. El dióxido de carbono formara burbujas, que serán atrapadas por el gluten del trigo que causa que el pan se levante. Debido a la rapidez con que se fermenta el pan, se requieren apenas pocas cantidades de alcohol, cuya mayoría se evapora durante el proceso de levitación.

**Horneado:** Se realiza a 125 °C durante aproximadamente 60 minutos. En este proceso dará su ultima hinchada, y dependerá de cuánto tiempo lo hayamos dejado reposar para que el sabor del Panetón sea ácido o dulce. De habernos excedido en el tiempo de fermentación el panetón sabrá ácido.

**Enfriamiento:** la temperatura rápida de enfriamiento que se recomienda es de aproximadamente 20 °C. ésta temperatura es la adecuada para a su vez evitar el ahilamiento producida por "*Bacillus Subtilis*" o *Bacilus Mesentericus*".

**Empaquetado:** en este proceso solo corresponde a empaquetar el panetón en su mayoría de veces en fundas de propietileno.

### **Ingredientes básicos del Paneton y su función:**

**Harina:** Deberá entenderse por harina, sin otro calificativo, el producto finamente triturado, obtenido de la molturación del grano de trigo maduro, sano y seco e industrialmente limpio. Los productos finalmente triturados de otros cereales deberán llevar añadido, el nombre genérico de la harina del grano del cual procede.

**Levadura:** Según el Código Alimentario Español la levadura prensada es el producto obtenido por proliferación del *Sccharomices cerevisae* de fermentación alta, en medios azucarados como la melaza.

Dentro de las levaduras más conocidas se encuentran: Las biológicas o naturales, levaduras químicas o gasificantes, levadura deshidratada, la levadura liquida y por último la industrial granulada.

Las principales funciones de la levadura son la transformación de la masa, creando un cuerpo fermentativo a partir de un cuerpo poco activo, desarrollo del aroma, debido a formación de compuestos de alcohol y éteres, y por último la producción de CO<sub>2</sub>, que permite el crecimiento de la masa.

**Edulcorantes:** entre las funciones de estos elementos dentro de la panificación se encuentra el endulzado, calidad comestible, tiempo de vida del producto, control de fermentación, fuente de alimentación para la levadura, sabor y color.

Existen diversas presentaciones como lo es Azúcar Granulada, azúcar en polvo, dextrosa o azúcar de maíz, y jarabes con alto contenido de fructosa.

**Grasas:** las funciones básicas de la manteca/grasas incluyen la formación de películas de aceite lubricante que ablandan el producto horneado y el entrapamiento y retención de aire durante las operaciones de mezclado o batido. Entre ellas se encuentran las mantecas, margarinas o los aceites.

**Agua:** Esta aporta con la función nutritiva para la levadura. Además permiten que se desarrollen las diversas acciones diastásicas. Juega un papel sumamente importante ya que si se añade poco agua, la masa no desarrolla mal en el horno, mientras que un exceso hace que la masa resulte pegajosa y se afloje quedando el pan aplanado.

**Leche y productos lácteos:** ofrece cualidades únicas que contribuyen tanto a la calidad como al valor nutritivo de los productos de panificación, aporta color ya que como el objetivo de la levadura no es el azúcar de la leche (Lactosa) esta se encuentra libre para brindar el color en el horneado, la lactoalbumina al igual que la lactosa ejercen efecto ablandador en la estructura de la miga, la caseína es un fortalecedor de masa que da cuerpo y elasticidad a la miga.

**Huevos:** los huevos son raramente usados en la elaboración del pan común, sin embargo en panificación dulce como en el caso de Panettone aportan con la textura de la masa, y por su alto contenido de proteína pueden aportar con la firmeza, ya que en el caso del Panettone es muy común la diversidad de ingredientes.

**Sal:** cumple diversas funciones, tales como el acentuar los sabores de los ingredientes, fortalecer el gluten de las masas de pan haciéndolas más firmes y menos elásticas. Controla la excesiva actividad de la levadura, e inhibe las reacciones de microorganismos productores de ácidos.

**Otros:** en el caso del Panetón es muy común ver en su formulación la presencia de frutas cristalizadas o bien conocidos como confitadas, pasas, frutos secos o chispas de chocolates. Estos aportan indudablemente con sabor y distinción propia del Panetón de otros productos.

## 1.4. Aditivos aplicados en la elaboración de Paneton

En la Industria actual el Paneton es una especialidad de gran consumo en países como Perú, Ecuador, Chile, Italia, con la peculiaridad de que su consumo es estacionario, su demanda es en la época navideña por esta razón su producción comienza en los meses de septiembre y requiere de periodos de vida útil largos específicamente en lo referente a la suavidad de este producto.

Los aditivos que usa la industria panificadora en este tipo de productos de larga vida son muchos entre ellos están aquellos mejoradores que lo ayudan a soportar la gran carga de frutas en la masa, mejoradores para la fuerza, mejoradores para ayudar al volumen, mejoradores para mejorar la vida de anaquel. Por ellos estos mejoradores son mezclas de oxidantes, emulsificantes, etc. Su clasificación :

### Clasificación de los aditivos

Modificadores de características	{ Colorantes Saborizantes Edulcorantes artificiales
Evasores de alteraciones químicas y biológicas	{ Conservadores Antioxidantes
Mejoradores o correctores de las propiedades de los alimentos	{ Reguladores de pH Gasificantes Leudantes
Mejoradores del aspecto físico	{ Emulsificantes Humectantes Antiaglomerantes Antiespumantes Espesantes y Gelificantes

Algunos de ellos son:

**Emulsificantes:** Permiten la formación y estabilización de la dispersión de dos o más sustancias que no son miscibles y se les hace referencia con varios nombres como surfactantes, suavizantes de corteza, agentes antiendurecimiento y acondicionadores de masa. Los emulsificantes producen suavidad a las masas facilitando su trabajo en las maquinas amasadoras, suavizan la miga dando textura más uniforme y mayor volumen al producto final, ayudan a retener mejor el gas obtenido de la fermentación por leudantes o gasificantes (CO<sub>2</sub>), y finalmente ayudan a incorporar de manera uniforme a las grasas y a los líquidos de la formulación evitando la separación de los mismo aun y cuando las masas o batidos permanezcan por algún tiempo en reposo.

Entre los emulsificantes se pueden mencionar a las lecitinas, mono y diglicéridos de ácidos grasos, esteres de poliglicerol, esteroil lactilato de sodio, mono y diglicéridos etoxilados, etc.

**Humectantes:** son productos que ayudan a retener el agua de los alimentos evitando su endurecimiento tales como sorbitol, glicerina y triacetina.

**Espesantes y Gelificantes:** se tienen principalmente a las gomas naturales o hidrocoloides, los cuales son polisacáridos y proteínas que se usan mucho actualmente, en soluciones acuosas, estabilizando espumas, emulsiones, dispersiones y que controlan el tamaño de de cristal de azúcar y del hielo; también controlan la liberación del sabor. Existe una gran variedad de hidrocoloides entre ellos los que principalmente son usados en la panificación a continuación:

**Coadyuvantes de la fermentación:** Se puede mencionar a las enzimas, las cuales son cadenas de proteínas que en medios óptimos de pH y temperatura hidrolizan enlaces de productos de cadena larga como proteínas, almidones, grasas, etc., haciéndolos de menor tamaño y de mayor biodisponibilidad para las levaduras del sistema, provocando un incremento en el volumen final del pan, así como buenos aspectos de color y crujencia de la superficie del mismo.

## CAPITULO 2

### 2. ESTUDIO EXPERIMENTAL

El estudio experimental está basado en la comparación de 3 opciones de formulaciones de aditivos con diferentes porcentajes de enzimas, con el mencionado diseño se define cual es la mejor composición para el alargamiento de vida del producto, el tiempo de vida está relacionado directamente con la retrogradación del almidón, el cual será medido por el Mixógrafo, y un análisis de varianza adicional para saber mediante la suavidad y firmeza la misma variable del tiempo de vida, estas propiedades serán medidas con un texturómetro.

Como se menciona anteriormente se harán 3 formulaciones que después de una primera aleatorización serán escogidas por ser las que posean las mejores cualidades para compararlas.

A continuación se detallan las concentraciones de las enzimas junto con el aditivo patrón que es la competencia de mejor comportamiento en el mercado.

**Tabla 2.1: Formulaciones Desarrolladas**

	<b>Patrón</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
Competencia	0.5%	-	-	-
Amilasa Maltogénica	-	120 ppm	200 ppm	250 ppm
Complejo Xylanasa-Celulasa-Lipasa	-	40 ppm	80 ppm	120 ppm

Las dosis propuestas de enzimas para diseñar el aditivo son en base a las Hojas técnicas recomendadas por el proveedor. Es necesario saber que no se puede reemplazar el 100% de los componentes (emulsificantes) del aditivo patrón por una mezcla de enzimas ya que de acuerdo a las recomendaciones de los fabricantes, la estructura del pan en la actualidad depende específicamente de la formulación de panetón pero también de los componentes del aditivo base que posee emulsificantes y gomas regularmente. Sin embargo aun con este tipo de mezclas enzimáticas existe una gran ventaja por el hecho de ahorro de emulsificantes, costos, extensión el tiempo de anaquel del pan (suavidad o atributos de frescura), es ecológico por motivo de ser de origen natural, traduciéndose todo esto en ganancias de una u otra manera.

También se realiza pruebas en el texturómetro durante siete meses al pan que se le aplicó las tres formulaciones de aditivos y a un patrón con el aditivo de la competencia proporcionado por el mismo fabricante.

Los resultados que se muestran son realizados en un laboratorio especializado para cereales ubicado en la zona industrial de Guayaquil con el equipamiento necesario para la el desarrollo del aditivo para panes de larga duración.

## 2.1. Equipos y Métodos

El estudio fue realizado en el laboratorio experimental, el mismo que cuenta con los siguientes equipos para la medición de los siguientes parámetros:

**Tabla 2.2 Equipos para estudio experimental**

<b>EQUIPOS</b>	<b>ACTIVIDAD</b>
Alveógrafo	Cualidades Plásticas Harina
Mixógrafo	Comportamiento Reológico
Texturómetro	Suavidad y Firmeza de Pan
Horno	Pruebas de panificación
Cámara de Fermentación	Pruebas de Panificación
Amasadora	Pruebas de Panificación
Balanza, pHmetro, Estufa	Análisis físico químicos

Los principales equipos y métodos que se deben de tener en cuenta en un procedimiento panario.

**Alveógrafo:** Su función principal es de reproducir en condiciones experimentales el alveolo panario. Este equipo es necesario para el estudio inicial de la harina que se utilizara en el experimento, ya que permite clasificar, calcular y seleccionar la materia prima más adecuada para el procedimiento. Se basa en los principios básicos de las cualidades reológicas como los es:

**Elasticidad** Calidad que tiene el material de volver a su punto de origen después de ser estirada.

**Viscosidad y Plasticidad** Calidad que tiene un material ya moldeado para conservar su forma resistiendo todas las fuerzas que actúan sobre él.



Figura 2.1: Alveografo

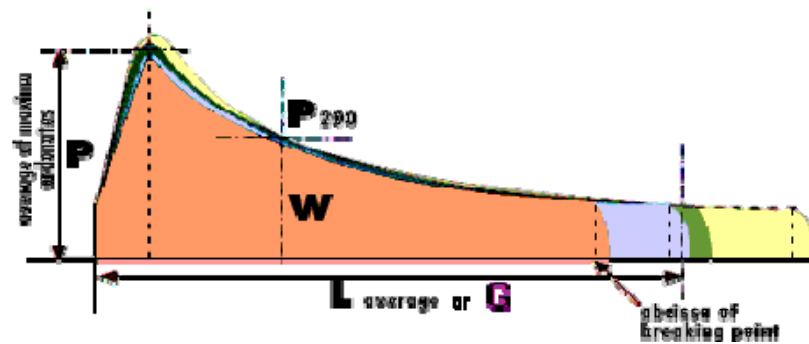


Figura 2.2 Alveograma



**Método:** Se pesan 250 gramos de harina que se amasan junto con una disolución de (CINa) Cloruro Sodico preparada al 2.5%. la cantidad de la disolución que se añade a este amasado depende de la humedad que tiene la harina. El método nos dice que estaremos amasando un minuto, y poco a poco añadir el agua aproximadamente por 15 segundos. Otro minuto pararemos para homogenizar la harina y luego seguir amasando por 6 minutos más. Durante este tiempo se debe aceitar con vaselina o aceite de cacahuete las superficies en donde se empleara la masa, tales como las bandejas, espátulas, cortaplastón y el rodillo.

Después de pasado el tiempo extraer 5 plastones, el primero de ellos colocarlo en la placa de extracción, pasamos 12 veces por encima el rodillo para darle forma, luego de esto introducirlos según fueron extraídos a la cámara del alveógrafo. La temperatura de esta cámara deberá estar a 25°C y la temperatura de la amasadora siempre será de 24°C.

Llegado el minuto 28 se comienza a insuflar aire de la cámara de presión, bajo la masa donde imitaremos un alveolo panario. A la vez que el alveolo se va hinchando, en el manómetro nos ira registrando la curva alveográfica.

Así lo haremos con todos los plastones, pero si queremos hacer la prueba de degradación se dejara el 2 y 4 durante 3 horas más.



Figura 2.3 Burbuja de Alveógrafo

**Mixógrafo:** La función principal del equipo es determinar las características físicas de las harinas, caracterizando el comportamiento reológico de una masa sometida a doble obligación de amasadura y de temperatura. Permite medir, en tiempo real, el par (expresado en Nm) producido por el paso de la masa entre dos fraseadores y así estudiar las características reológicas de la masa (capacidad de hidratación, tiempos de desarrollo).

El debilitamiento de las proteínas, la actividad enzimática y la gelatinización y gelificación del almidón.



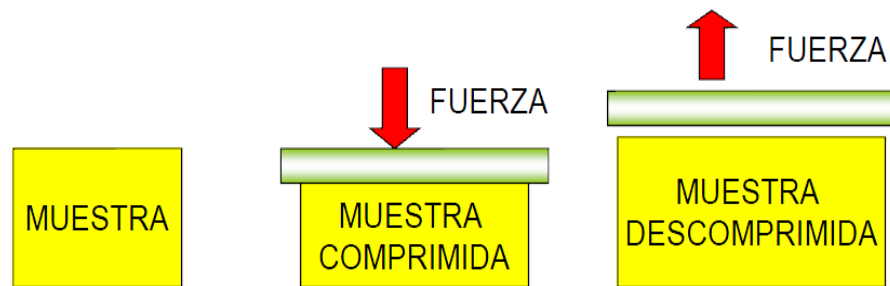
**Figura 2.4: Mixógrafo**

**Método:**

- Preparar la prueba a partir del programa "Mixolab Chopin".
- Elegir un protocolo predefinido a partir del menú previamente instalado.
- Indicar el nombre de la prueba.
- Introducir la tasa de deshidratación deseada y su base.
- Indicar el contenido de agua de la harina utilizada.

- Hacer clic en el icono de inicio para comenzar la prueba, automáticamente la prueba estará lista para realizarse.
- Aparecerá una nueva ventana indicándole que coloque la harina a analizar.
- Tras cierto tiempo, un mensaje intermitente aparece indicando que Coloque la boquilla en la vasija previamente limpia antes de colocarla.
- Cuando todos los parámetros hayan alcanzado su valor de consigna, la prueba comienza (autocero, comienzo de registro del par, etc)
- Luego de esto el equipo estará presto para otorgar resultados finales apareciendo en la pantalla sus respectivas curvas, todos estos resultados se podrán registrar, imprimir o suprimir.
- Limpiar adecuadamente todos los componentes usados en el equipo.

**Texturómetro:** El analizador de textura es básicamente un equipo que registra la respuesta de un material de prueba a las condiciones mecánicas impuestas (Carga/Fuerza). El instrumento realiza un movimiento hacia debajo de compresión o tensión y la lectura consistirá en la manera en que el material vuelve a su forma original una vez que las fuerzas son quitadas del mismo. Es así que se prueba la resistencia física a determinadas condiciones impuestas.



**Figura 2.5 Fundamento Medición Textura. Senati**

**Método:**

- La instrucción siguiente será aplicable para productos panaderos y evaluar la firmeza de estos.
- Empezar cortando 3 rodajas de pan de 2 cm de ancho de cada una
- Medir la firmeza del pan con el texturómetro
- Ingresar al programa del computador, definir test y muestra.

- Preparar el equipo, eligiendo al accesorio adecuado al producto a medir.
- Correr Test
- Guardar corrida.

**Horno:** Equipo que se usa para las pruebas de panificación, las cuales son necesarias para hacer el estudio del comportamiento del pan, los equipos de panificación a nivel de laboratorio cuentan con los dispositivos de control de humedad y temperatura para que los resultados sean reproducibles. En el horno se somete a la masa a las temperaturas y tiempos determinadas de cocción característicos del tipo de pan a elaborar (Panetón). Lo esencial del horno es que logre aparte de cocinar el producto, conseguir un aumento de la masa de pan debido al calor y endurecimiento de la superficie, con lo cual al mismo tiempo conseguimos matar a las levaduras y posibles contaminantes.

**Cámara de fermentación:**



**Figura 2.6 Cámara de fermentación**

Se cuenta también con este equipo para brindarle el calor y humedad requerida para realizar la fermentación controlada. La temperatura que se aplica es entre 28 a 32 °C, mientras que la humedad es de 70 a 85%. Es importante controlar estos dos parámetros ya que una temperatura mayor a la adecuada se producirá

mayor ácido láctico y butírico o viceversa y esto puede no favorecer a los atributos sensoriales del pan.

## 2.2. Diseño del experimento para el desarrollo del Aditivo enzimático.

Se tiene que verificar si existe diferencia significativa en el tiempo de vida útil entre 3 diferentes dosificaciones tanto de amilasa maltogénica como el complejo de xylanasa-celulasa y sus respectivas interacciones, de un aditivo enzimático para productos de panificación de larga duración, y adicionalmente se compara un producto elaborado sin aditivo existente en el mercado por lo cual definiremos que de la primera parte de lo explicado se tomarán 3 niveles, lo que corresponderá a nuestras 3 muestras desarrolladas en el laboratorio, luego de esto se compara la que arroje los mejores resultados con el producto del mercado proporcionado por el fabricante.

### 2.2.1 Variables y Niveles para pruebas experimentales.

Las variables usadas serán las diferentes enzimas utilizadas, estas son, la enzima Amilasa Maltogénica y el complejo enzimático Xylanasa-Celulasa. Mientras tanto que los niveles serán dosificaciones de 120, 200 y 250 ppm en el caso de Amilasa, y de 40, 80 y 120ppm para el complejo Xylanasa-Celulasa.

De acuerdo a estas variables, que en ocasiones lo llamaremos como factores, y niveles se obtendrá una aleatorización de las posibles dosificaciones proporcionadas por la siguiente tabla.

**Tabla 2.3 Dosis a aleatorizar**

FACTORES	DOSIS		
	1	2	3
ALFAMILASA MALTOGENICA	120ppm	200ppm	250ppm
XYLANSA-CELULASA	40ppm	80ppm	120ppm

### 2.2.2. Determinación de corridas experimentales

A continuación se observan los datos obtenidos por el mixógrafo de esta aleatorización mencionada como Retrogradación.

**Tabla 2.4 Valores aleatorizados de formulaciones**

<b>Amilasa maltogenica</b>	<b>Complejo Xylanasa Celulasa</b>	<b>Retrogradacion</b>
1	2	1.83
2	1	1.81
3	2	1.75
3	3	1.74
2	2	1.74
3	1	1.79
1	3	1.81
2	3	1.75
1	1	1.84
3	2	1.76
1	3	1.8
2	3	1.75
2	2	1.75
2	1	1.82
1	2	1.82
1	1	1.85
3	1	1.8
3	3	1.75

Para el desarrollo del diseño experimental se utilizara un modelo factorial  $3^k$  por duplicado donde:

3: número de niveles del experimento.

k: números de factores del experimento.

Corridas experimentales =  $2 \times 3^2$

Corridas experimentales = 18

En el experimento se obtiene la siguiente ecuación:

$$y_{ijk} = \mu + A_i + X_j + AX_{ij} + \varepsilon_{k(ij)}$$

Donde  $y_{ijk}$  es la variable de respuesta, es decir la predicción otorgada por el mixógrafo de retrogradación, que se lo podría traducir como tiempo de vida útil en el pan,  $\mu$  es un parámetro para todos los tratamientos llamado la media general.

$A_i$ : Es la dosificación en ppm de Amilasa Maltogénica.

$X_j$ : Es el efecto dado por el complejo enzimático Xylanasa-Celulasa.

$AX_{ij}$ : Es el efecto de la interacción entre la dosificación de Amilasa Maltogénica y la Xylanasa-Celulasa.

$\varepsilon_{k(ij)}$  corresponde al error que incorpora todas las fuentes de variabilidad en el experimento.

Las hipótesis a evaluar son las siguientes:

$$H_0: A_i = 0 \text{ vs } H_1: A_i \neq 0$$

$$H_0: X_j = 0 \text{ vs } H_1: X_j \neq 0$$

$$H_0: AX_{ij} = 0 \text{ vs } H_1: AX_{ij} \neq 0$$

Con las pruebas de hipótesis mencionadas, se trata de demostrar que los factores tanto Amilasa Maltogénica, como Complejo Xylanasa-Celulasa, y la interacción de ambas, no ejercen ninguna influencia en la variable de respuesta.

### **2.3. Pruebas de panificación**

La elaboración del panetón consiste en agregar todos los ingredientes de la primera parte, con ello adicionar y amasar por 4 minutos a velocidad baja, luego de eso dejar en la cámara de fermentación por 30 minutos.

En la parte 2 la masa de la parte anterior colocarla en la amasadora mas todos los polvos y las yemas de huevo amasando a velocidad lenta por 1 minuto, al terminar con el paso anterior adicionar la manteca y margarina por 9 minutos a velocidad lenta nuevamente o hasta notar la red de gluten.

Por último agregar las frutas confitadas, pasas y esencia de vainilla por otros 3 minutos en la amasadora.



Tabla 2.5 Formulación muestra A

## PARTE 1

INGREDIENTES	Porcentaje (%)
Harina Virgen	100
Levadura Fresca	7
Azucar	8
Agua	37.0

## PARTE 2

INGREDIENTES	Porcentaje (%)
Azucar	28
Sal	0.42
Yema de Huevo	9.5
Leche en polvo	3.15
Propionato de Calcio	0.5
Excipiente	0.49
Gluten	7.5
Amilasa Maltogenica	0.008
Complejo Xylanasa-Celulasa	0.0027
Margarina	10
Manteca	10
Pasas	20
Fruta Confitada	30
Esencia de Vainilla	0.2

Tabla 2.6 Formulación muestra B

## PARTE 1

INGREDIENTES	Porcentaje (%)
Harina Virgen	100
Levadura Fresca	7
Azucar	8
Agua	37.0

## PARTE 2

INGREDIENTES	Porcentaje (%)
Azucar	28
Sal	0.42
Yema de Huevo	9.5
Leche en polvo	3.15
Propionato de Calcio	0.5
Excipiente	0.48
Gluten	7.5
Amilasa Maltogenica	0.013
Complejo Xylanasa-Celulasa	0.0053
Margarina	10
Manteca	10
Pasas	20
Fruta Confitada	30
Esencia de Vainilla	0.2

**Tabla 2.7 Formulación muestra C**

**PARTE 1**

INGREDIENTES	Porcentaje (%)
Harina Virgen	100
Levadura Fresca	7
Azucar	8
Agua	37.0

**PARTE 2**

INGREDIENTES	Porcentaje (%)
Azucar	28
Sal	0.42
Yema de Huevo	9.5
Leche en polvo	3.15
Propionato de Calcio	0.5
Excipiente	0.47
Gluten	7.5
Amilasa Maltogenica	0.016
Complejo Xylanasa-Celulasa	0.008
Margarina	10
Manteca	10
Pasas	20
Fruta Confitada	30
Esencia de Vainilla	0.2

**Tabla 2.8 Formulación muestra Patron**

**PARTE 1**

INGREDIENTES	Porcentaje (%)
Harina Virgen	100
Levadura Fresca	7
Azucar	8
Agua	37.0

**PARTE 2**

INGREDIENTES	Porcentaje (%)
Azucar	28
Sal	0.42
Yema de Huevo	9.5
Leche en polvo	3.15
Propionato de Calcio	0.5
Excipiente	0.5
Gluten	7.5
Margarina	10
Manteca	10
Pasas	20
Fruta Confitada	30
Esencia de Vainilla	0.2

## 2.4. Estudio Reológico.

El estudio reológico en el que se va a profundizar es el de haber determinado la predicción de la retrogradación del almidón mediante un mixograma, y por otro lado, comprobar los resultados obtenidos del mismo, mes a mes mediante parámetros de textura con el equipo apropiado. Al iniciar el estudio reológico cabe destacar que se hizo también un estudio del comportamiento reológico de la harina mediante un alveógrafo con el fin de realizar las pruebas con la misma materia prima y en sus condiciones óptimas para una buena elaboración del panetón.

### 2.4.1. Alveogramas

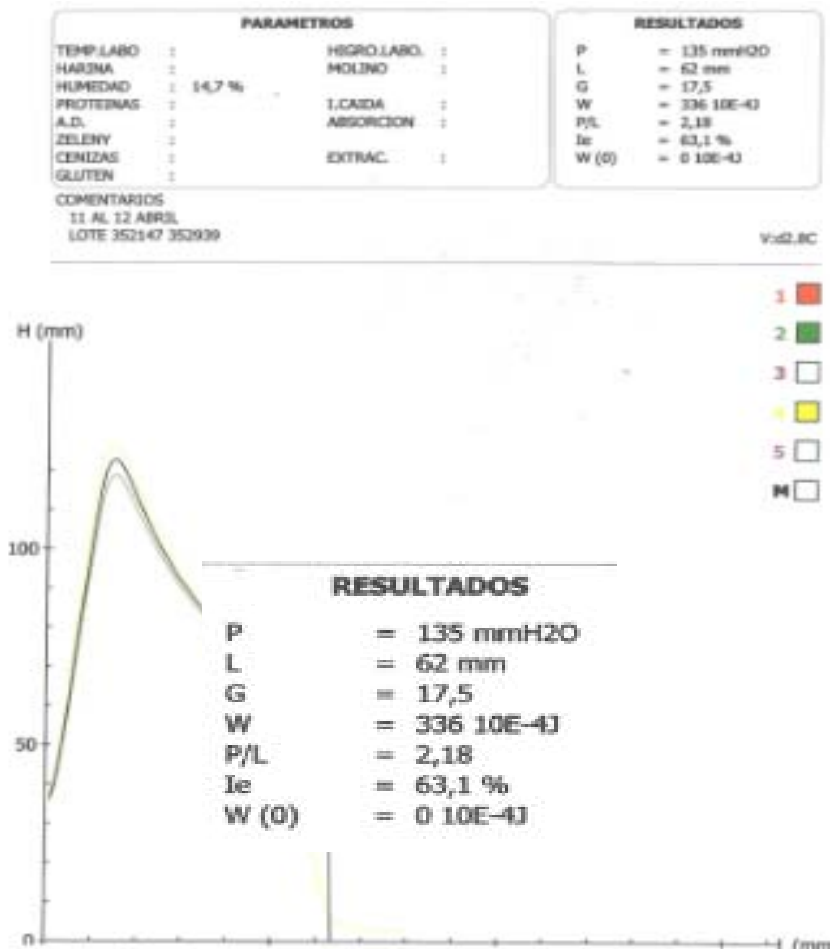


Figura 2.7: Alveogramas

## 2.4.2. Mixogramas

A continuación se presentan la esquematización de una curva típica del mixógrafo con sus respectivas definiciones. Luego de eso presentan las 4 curvas correspondientes a las muestras de nuestro estudio.

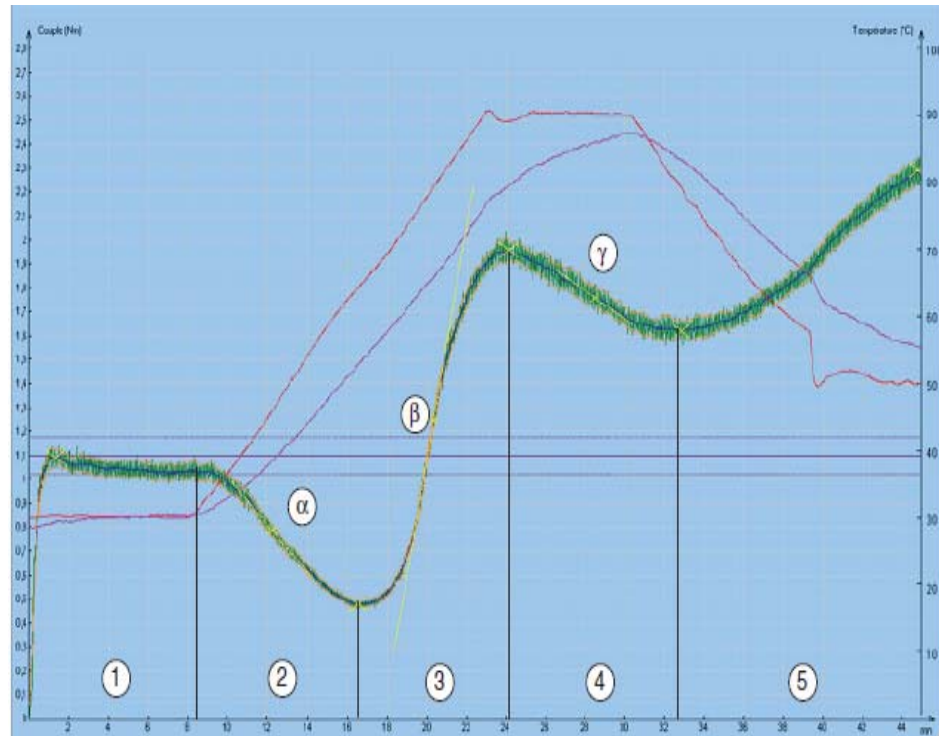


Figura 2.8: Ejemplo curva mixograma

### 1:Desarrollo

A temperatura constante, el principio de la prueba permite determinar el poder de absorción de agua de las harinas y medir las características de las masas durante la amasadura (estabilidad, elasticidad, potencia absorbida).

## **2: Debilitamiento de las proteínas**

En cuanto la temperatura de la masa aumenta, la consistencia disminuye. La intensidad de este debilitamiento depende de la calidad de las proteínas.

## **3: Gelatinización del almidón**

A partir de cierta temperatura, los fenómenos vinculados a la gelatinización del almidón se vuelven preponderantes y se observe entonces un incremento de la consistencia. La intensidad de este incremento depende de la calidad del almidón y, eventualmente, de los aditivos añadidos.

## **4: Actividad amilásica**

El valor de la consistencia al final del escalón depende mayoritariamente de la actividad amilásica endógena o añadida. Cuanto más grande sea la disminución de la consistencia, mas importante será la actividad amilásica.

## **5: Gelificación del almidón**

Al enfriarse, se reduce el almidón y la consistencia del producto aumenta.

Algunos productos químicos tienen una acción sobre este fenómeno y limitan la importancia de este, permitiendo así retrasar el secamiento y conservar mayor flexibilidad al producto elaborado.

### MUESTRA PATRON

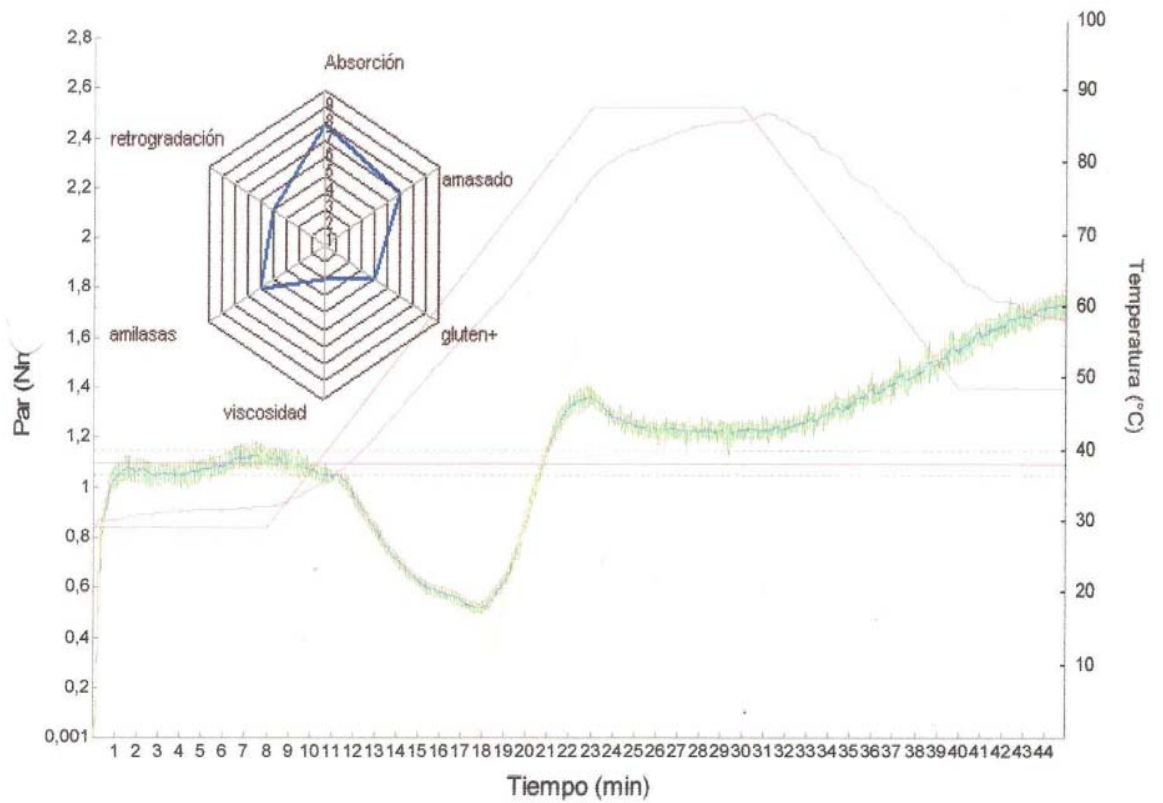
**Muestra:**

**Hidratación:** 61,1 % base 14% (b14)

**Contenido en agua** 13,7 %

**Índice:** 7-64-254

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. masa (° C)	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	7,80	1,13	33,0	0,06	11,27
C2	17,80	0,52	59,4		
C3	23,02	1,37	79,9		
C4	29,33	1,22	88,0		
C5	45,03	1,76	59,7		



**Figura 2.9 Mixograma Patron**

## MUESTRA A

**Muestra:**

**Hidratación:** 59,2 % base 14% (b14)

**Contenido en agua** 14,0 %

**índice:** 6-29-376

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. masa (° C)	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	1,88	1,14	32,2	0,10	10,52
C2	16,63	0,65	55,5		
C3	21,95	1,66	75,0		
C4	26,27	1,53	85,4		
C5	45,03	1,84	61,2		

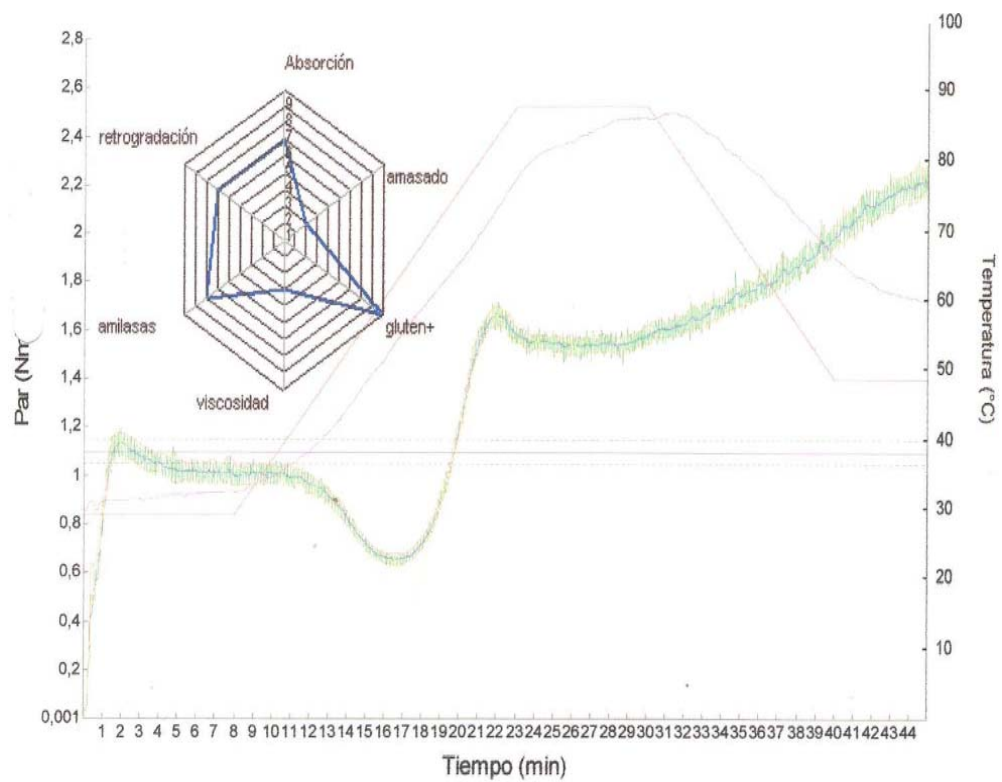


Figura 2.10 Mixograma muestra A

MUESTRA B

Muestra:

Hidratación: 63,2 % base 14% (b14)

Contenido en agua 14,0 %

índice: 8-43-254

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. masa (° C)	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	1,47	1,13	31,2	0,08	18,78
C2	16,85	0,47	55,4		
C3	22,20	1,41	75,9		
C4	28,37	1,18	87,6		
C5	45,05	1,74	61,1		

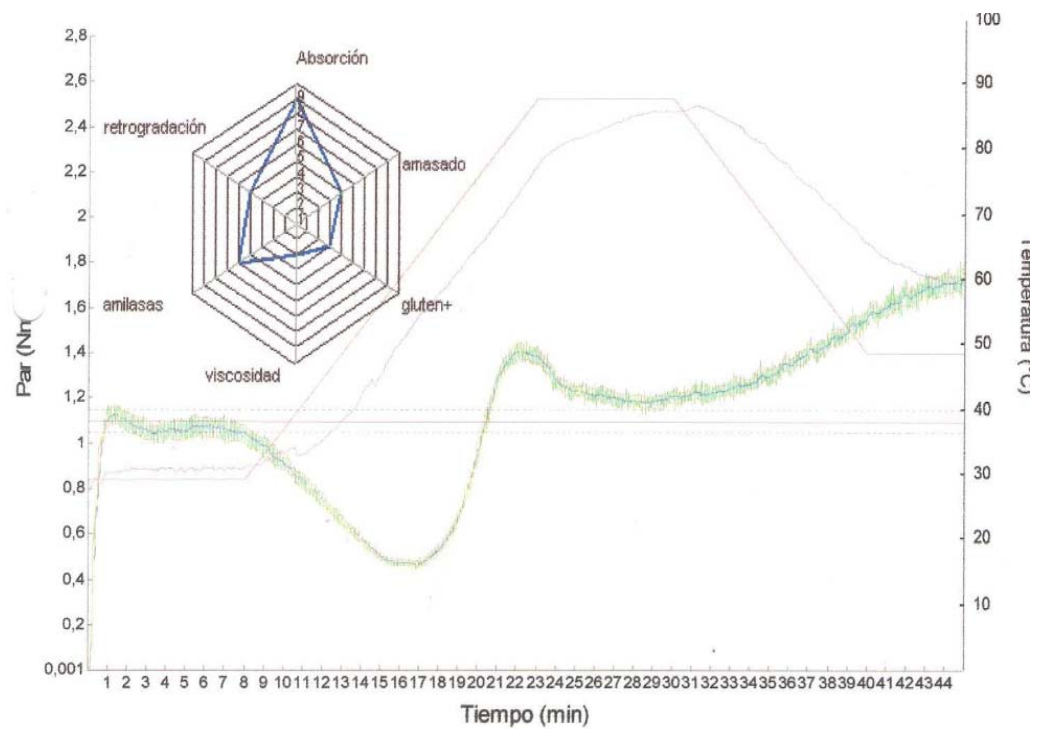


Figura 2.11 Mixograma muestra B



## MUESTRA C

Muestra:

Hidratación: 60,7 % base 14% (b14)

Contenido en agua 13,8 %

índice: 7-27-363

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. masa (° C)	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	1,45	1,15	30,9	0,11	18,77
C2	18,25	0,51	57,3		
C3	24,08	1,70	79,4		
C4	32,77	1,53	86,1		
C5	45,05	1,74	62,4		

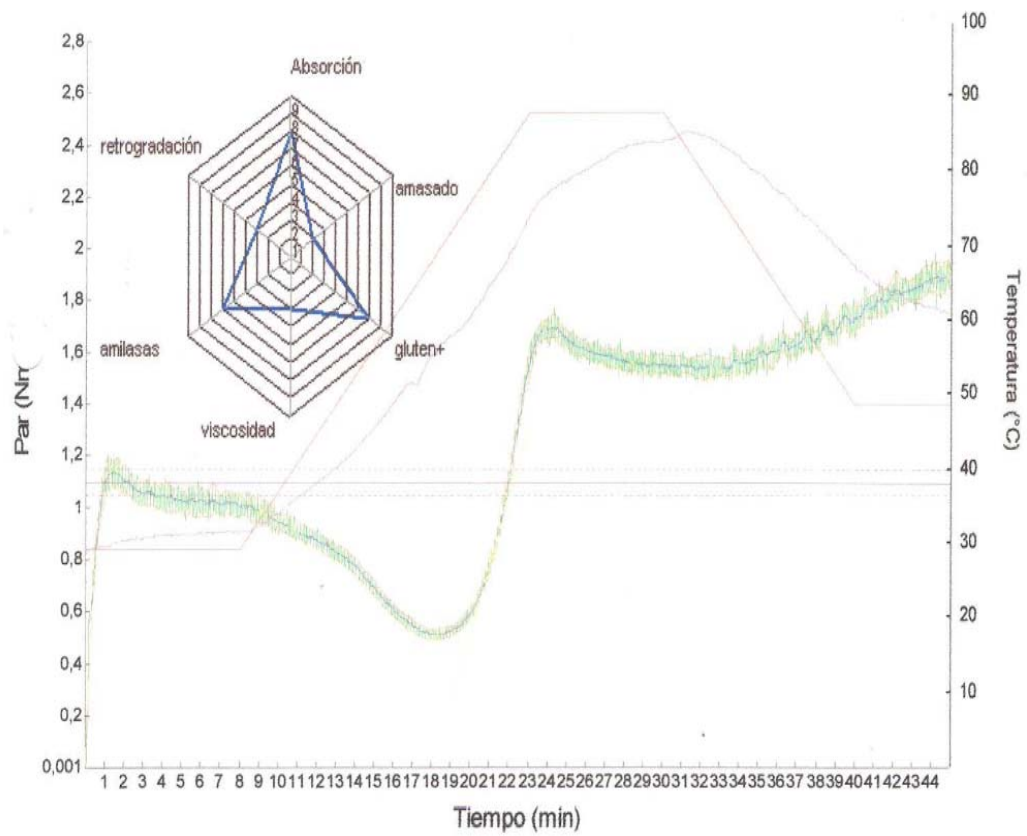


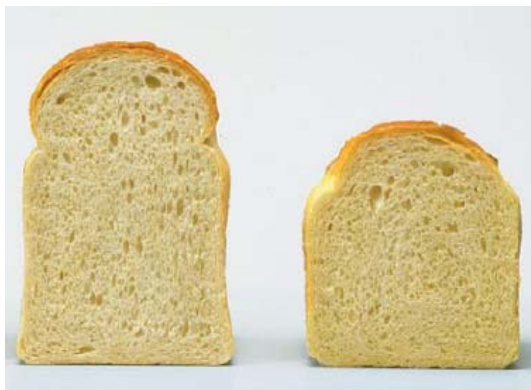
Figura 2.12 Mixograma muestra C

## 2.5. Medición del Volumen del Pan.

Este procedimiento se realizó en base a la técnica descrita en la AACC referencia 10-05 del año 2000. Ver anexo1. Este procedimiento se demuestra que con ninguna de las dosificaciones hubo cambio de volumen, es decir, que este parámetro estuvo controlado.

## 2.6. Estructura y suavidad de la miga:

La percepción de la miga al tacto o en la boca está muy influenciada por el tamaño y la estructura de las alveolos: cuando son finos, con paredes delgadas y uniformes en tamaño, la textura es más suave y más elástica que cuando son grandes, irregulares en tamaño y con paredes más gruesas.



**Figura 2.13. Estructura de la Miga**

Durante la etapa de cocción parte de la amilosa escapa de los gránulos de almidón, se disuelve en el agua y forma un gel bastante firme entre los gránulos de almidón hinchado del pan recién cocido. Con el tiempo ésta amilosa recristaliza a su forma original insoluble, se vuelve dura y quebradiza y reduce la esponjosidad de la miga.

Por tanto, la retrogradación es el factor principal que influye en los cambios de la consistencia de la miga con el paso del tiempo. Al añadir emulgente suavizante, el comportamiento del almidón durante la cocción es diferente: cuando la temperatura llega a 55° C entran dichos aditivos en una forma

cristalina líquida reaccionando con la amilosa y formando un complejo helicoidal insoluble.

Esta reacción eleva la temperatura de gelatinación de los gránulos de almidón, reduciéndose así la totalidad de almidón gelatinizado. Esto significa que el gel del almidón tiene menos amilosa y por ello la miga se mantiene más blanda y esponjosa.

Luego entonces, está demostrado que los emulgentes disminuyen la retrogradación de parte del almidón y reducen la pérdida de agua de la proteína, retrasando así la formación de una estructura rígida de la misma, y proporcionando una miga más blanca y esponjosa durante un período más largo.

## **2.7.Estabilidad.**

El producto que resulta de las pruebas de panificación, se someten a pruebas de estabilidad; por ello, se realizan de cada una de las pruebas un juego de por lo menos 10 panes para ser guardados en percha a temperatura y humedad del ambiente que comúnmente se practica en el mercado. Los panes se guardan en el material que generalmente se comercializa, como son laminados de polipropileno

Mes a mes se retira una de las unidades de cada prueba y se prueban frente al patrón. Se realiza una evaluación sensorial con un panel entrenado de 12 personas, el cual califica básicamente suavidad y resiliencia, al mismo tiempo se hacen los microbiológicos y pruebas de humedad. Con estos valores se hacen una tabla y se analizan los resultados para saber el comportamiento del producto a través del tiempo.



## CAPITULO 3

### 3. ANALISIS DE RESULTADOS

El presente trabajo muestra los resultados obtenidos en las pruebas experimentales del laboratorio, donde se realizaron básicamente Mixogramas, texturometría y sensoriales a las tres alternativas (mezclas de dosificación de enzimas) y al patrón (aditivo competencia), tratando de alcanzar el objetivo de extender la vida útil en términos de suavidad de una formula de pan de larga duración (Panetón).

A continuación se detallan los resultados, los cuales se analizan estadísticamente de manera que se obtengan fiabilidad en las conclusiones ya que según la información bioquímica en que se fundamenta este estudio, las enzimas que se presentan en este trabajo ayudan a retardar el envejecimiento del pan al evitar la retrogradación temprana del almidón.

Un análisis de resultados según Julián de la Horra en su texto de “Estadística Aplicada” menciona que el análisis de resultados consiste en describir, analizar e interpretar ciertas características del conjunto de individuos de la población tomada en un ensayo. En este caso se toman los resultados que se obtienen de los equipos de las tres alternativas de combinación de dosis de enzima, para con ello diseñar el aditivo más competitivo funcionalmente y en costos, y al mismo tiempo probar los resultados bioquímicos en los que se basa este estudio.

Para la elaboración de las corridas experimentales se usaron herramientas estadísticas, como lo es el Programa estadístico de STATGRAPHIC PLUS para Windows 5.1 y Minitab Versión 15.

De los valores obtenidos en la aleatorización del capítulo anterior, respectivamente se verifica cuál de ellos es la mejor dosificación a tomar, por tal motivo se hace una grafica factorial para demostrar entre las interacciones, cuál de ellas es la que posee mejor aplicación o posibilidad de producir un cambio significativo en el tiempo de vida útil del Paneton.

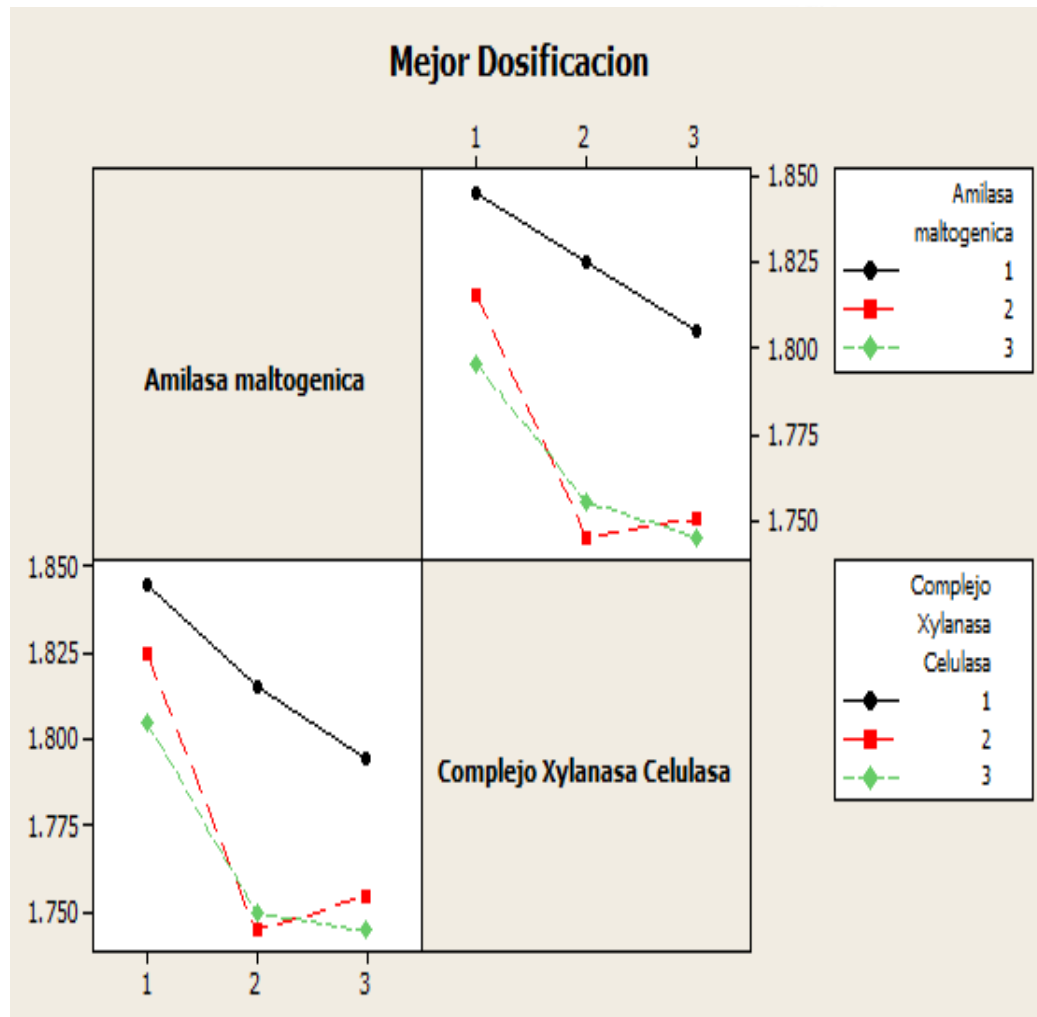


Figura 3.1: Mejor Dosificación

De acuerdo a la grafica se evidencia que:

Las dosis a probar serán escogidas de acuerdo a las 2 muestras que demuestren cuantitativamente menor valor de retrogradación (Valor C5 de pruebas de mixógrafo) y esas son las interacciones de la segunda dosificación de Maltogénica con la segunda dosificación de Complejo Enzimatico Xylanasa-Celulasa, se rotula como muestra "B", y la tercera dosificación de Maltogénica con la tercera de Xylanasa-Celulasa se rotula como muestra "C". Ver Tabla 2.1

Adicionalmente demostrar que existe diferencia entre una dosificación de valor extremo comparado a las dosis escogidas anteriormente, es decir las dosificaciones más bajas de ambos factores a evaluar, a la que se rotula como muestra "A"

### 3.1 Resultados y análisis estadístico de las pruebas reológicas.

Dentro de este apartado se pretende demostrar que entre las dosificaciones escogidas, (A, B, C), por lo menos una de ellas tenga diferencia en comparación al patrón. Es decir que bioquímicamente haya una mejor sinergia para mantener la suavidad a través de los meses con una predicción de los datos obtenidos en la pruebas del mixógrafo (mixolab).

Esto se lo realiza de la siguiente manera :

Se coloca los datos del mixógrafo en el programa y lo primero es observar si la distribución de la data es normal, Ver anexo 2 esto se realiza con el ejemplo de un planteamiento de la respectiva prueba de hipótesis que se detalla en la siguiente tabla.

**Tabla 3.1 Prueba de hipótesis de Dist. Normal**

<p>Ho: La Distribución de la data sigue una Distribución Normal Ha: <math>\neg</math>Ho</p>
---

Con esta prueba de hipótesis se quiere demostrar que en caso de que no cumpla con la Distribución Normal, la opción a escoger es de hacer la corrida experimental con pruebas No paramétricas, las cuales son aptas para este tipo de Distribuciones.

En este caso la data no sigue una Distribución Normal, por lo que la prueba apropiada son las No Paramétricas, de las cuales como son más de dos muestras a analizar, se toma en cuenta la de Kruskal Wallis. La prueba de Hipótesis y los resultados se detallan en la siguiente tabla.

**Tabla 3.2 Prueba de hipótesis medianas**

$H_0: \eta_1 = \eta_2 = \eta_3 = \eta_4$ $H_a: \neg H_0$
---

La hipótesis planteada indica que por lo menos una de las alternativas de dosificación demuestra mejora en la suavidad del pan en el objetivo que se plantea de aumentar el tiempo.

**Tabla 3.3 Resultados de prueba estadística**

<i>Muestra</i>	<i>Tamaño Muestra</i>	<i>Rango Promedio</i>
A	10	35,5
B	10	11,0
C	10	10,0
PATRON	10	25,5

Estadístico = 34,5482    Valor-P = 1,51763E-7

Con un valor  $p=0.000$  existe evidencia estadística suficiente para rechazar  $H_0$ , es decir que por lo menos una de las pruebas difiere entre las otras.



La prueba de Kruskal-Wallis evalúa la hipótesis nula de que las medianas dentro de cada una de las 4 columnas es la misma. Primero se combinan los datos de todas las columnas y se ordenan de menor a mayor. Después, se calcula el rango (rank) promedio para los datos de cada columna. Puesto que el valor-P es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas con un nivel del 95,0% de confianza. Para determinar cuáles medianas son significativamente diferentes de otras, observar el grafico de cajas siguiente:

Gráfico Caja y Bigotes

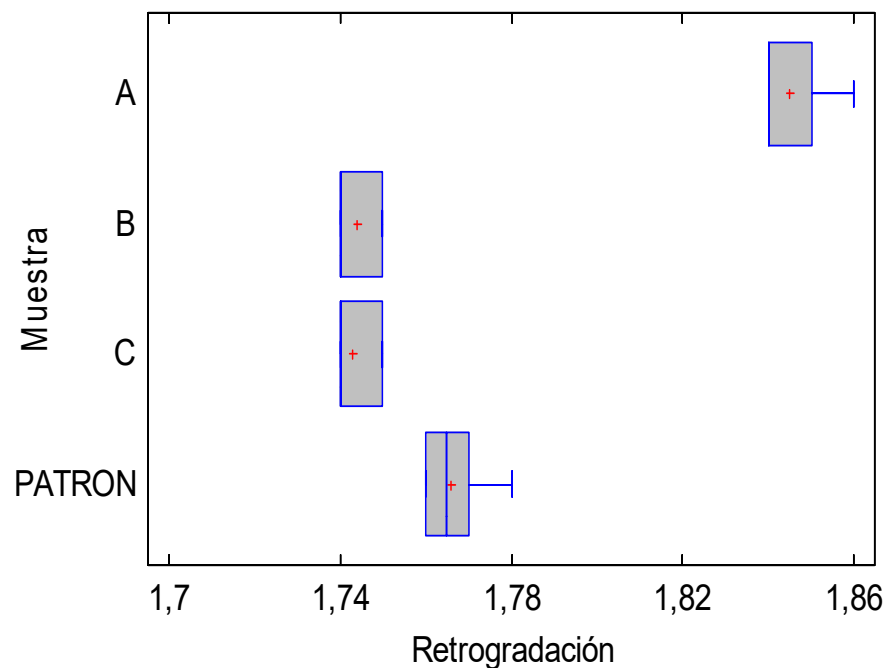


Figura 3.2 Diagrama de cajas Retrogradación

El gráfico indica que dentro de las comparaciones realizadas por el mismo programa la muestra B y C no poseen diferencia significativa, esto de igual manera se corrobora con el diagrama de cajas que visualmente no existe diferencia significativa entre las dos muestras, pero que con el patrón y la muestra A si podría existir.

Entonces los resultados demuestran que las muestras más idóneas de acuerdo a la estadística realizada con los datos del mixógrafo para alargar la vida útil podría ser las alternativas B y C para diseñar el aditivo.

Como se especifica anteriormente, también se hace un análisis de texturometría. Los datos que se usan es la diferencia entre los dos picos que el texturómetro arroja al momento de la lectura (ver Anexo 3). El resumen de los datos y resultados se muestra en las siguiente tablas.

**Tabla 3.4 Resumen de datos de texturometría**

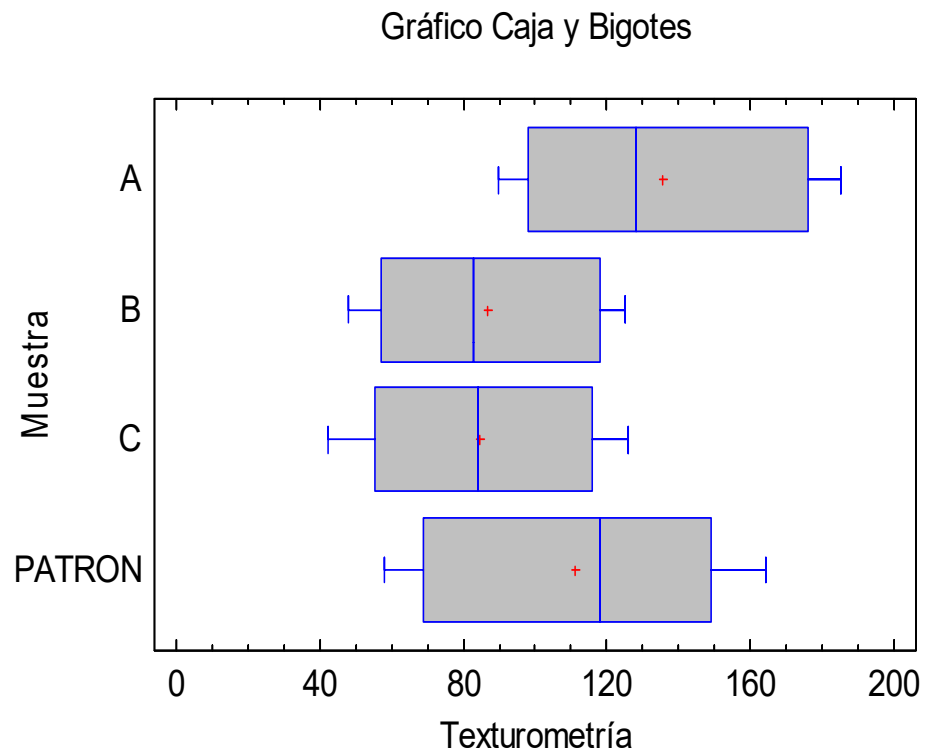
PATRON	A	B	C
58	89.9	48	42.3
69	98	57	55.3
87	115.2	70	69.1
118	128	83	84
133.5	157.8	105	99.1
149	175.8	118	115.8
164	185	125	126

**Tabla 3.5 Resultados ANOVA texturometría**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	12163,2	3	4054,4	3,27	0,0385
Intra grupos	29722,0	24	1238,42		
Total (Corr.)	41885,2	27			

La tabla ANOVA descompone la varianza de Texturometría en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 3,27386, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de Texturometría entre un nivel de muestra y otro, con un nivel del 95,0% de

confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, seleccione Pruebas de Múltiples Rangos, de la lista de Opciones Tabulare



**Figura 3.3 Diagrama de cajas texturometría**

Como se aprecia en la información posterior de la prueba de Tukey, con un valor  $p=0.038$  existe evidencia significativa para rechazar  $H_0$ , es decir que no existe diferencia significativa entre B y C, y que A es significativamente diferente entre las otras.

Es decir estos resultados hacen congruencia con la predicción del mixógrafo, sostienen que la muestra B y C son alternativas para alargar el tiempo de vida útil, mientras que la A se puede descartar como alternativa y el patrón ya fue superado por B y C, logrando dos meses más de vida útil.

**Tabla 3.6 Resumen de resultados de textuometría**

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
C	7	84,5143	X
B	7	86,5714	X
PATRON	7	111,214	X
A	7	135,671	X

**Tabla 3.7 Resultados de comparación múltiple textuometría**

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
A - B	*	49,1	38,823
A - C	*	51,1571	38,823
A - PATRON		24,4571	38,823
B - C		2,05714	38,823
B - PATRON		-24,6429	38,823
C - PATRON		-26,7	38,823

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 2 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza.

En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

En términos más aptos de entendimiento, para los datos que se toman de texturometría se nota que las pruebas B y C si cumplen con lo esperado previamente en los datos del Mixógrafo y muestran una diferencia entre la muestra A, el patrón como posee similitudes con la muestra A, se descarta como las mejores opciones de alargamiento de vida útil, ya que no proporciona los mejores resultados en comparación a la B y C.

### 3.2 Resultados y Análisis de Evaluación Sensorial.

En lo que corresponde a este análisis se realiza un modelo lineal general en el que mediante los resultados de una escala de calificación del 1 al 5 con referencia a suavidad y resiliencia, se pretende demostrar que a medida que pasan los meses existe una diferencia en la características antes mencionadas de los mismos. Adicionalmente con un diagrama de cajas, se observa cual es la muestra con el mayor resultado de dicha escala.

En la siguiente tabla se muestra los resultados obtenidos de una evaluación sensorial y de la corrida experimental de suavidad.

**Tabla 3.8 Resumen de datos de suavidad**

MESES	MUESTRAS			
	A	B	C	PATRON
0	4	5	5	5
1	3	4	5	4
2	3	4	5	4
3	2	4	5	3
4	2	4	4	2
5	1	4	4	1
6	1	4	4	1
7	1	3	3	1

Número de variables dependientes: 1 (suavidad)  
 Número de factores categóricos: 2  
 A=Muestra  
 B=Mes

**Tabla 3.9 Resultados estadísticos ANOVA para suavidad**

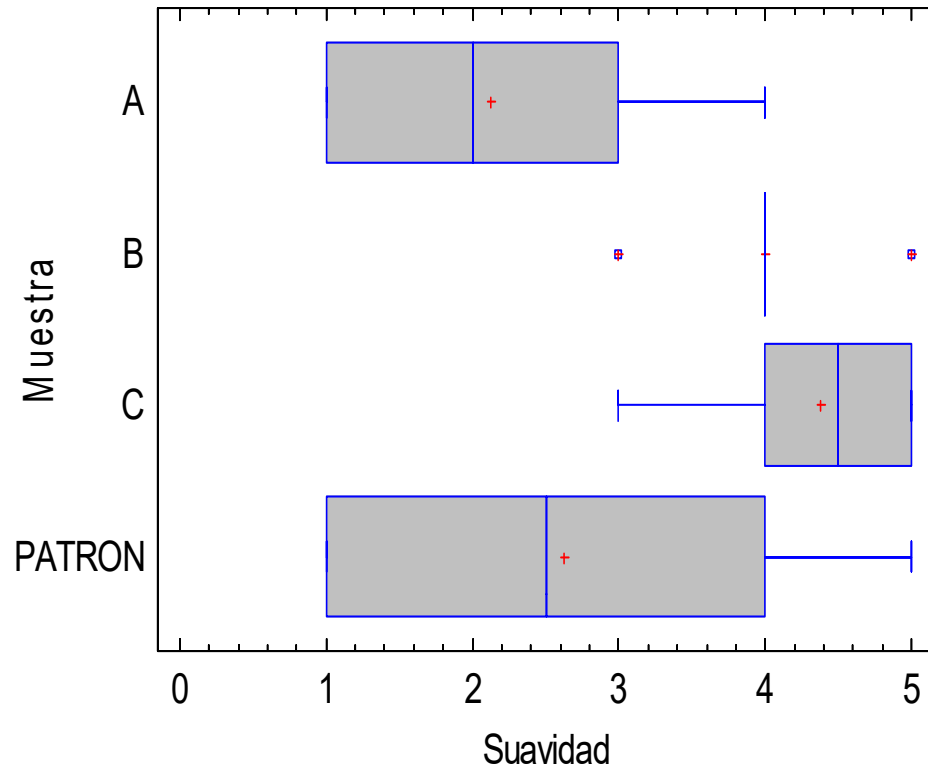
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	52,5625	10	5,25625	13,96	0,0000
Residuo	7,90625	21	0,376488		
Total (Corr.)	60,4688	31			

R-Cuadrada = 86,9251 por ciento  
 R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 80,6989 por ciento  
 Error estándar del est. = 0,613586  
 Error medio absoluto = 0,421875

Esta ventana resume los resultados de ajustar un modelo estadístico lineal general que relaciona a Suavidad con 2 factores predictivos. Dado que el valor-P en la primer tabla ANOVA para Suavidad es menor que 0,05, hay una relación estadísticamente significativa entre Suavidad y las variables predictoras con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 86,9251% de la variabilidad en Suavidad. El estadístico R-Cuadrada ajustada, el cual es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 80,6989%.

### Gráfico Caja y Bigotes



**Figura 3.4 Diagrama de cajas Suavidad**

Respecto al gráfico se observa que existe una concentración de datos en el valor 4 de la muestra B, aparte las pruebas B y C siguen siendo las preferidas sensorialmente existiendo una diferencia entre la A y la del patrón. Con lo que se puede evidenciar que son las más aceptables a través del tiempo, llegando a un buen perfil de suavidad aun a los 6 meses, mientras que la muestra A y el patrón se quedan en el mes 3 y 4 correspondientemente.

Por otra parte se hace una evaluación sensorial con el mismo tipo de escala pero midiendo la resiliencia (que la miga tome su forma inicial al momento de aplicar compresión) conforme pasan los meses.

A continuación el resumen de datos de las evaluaciones.

**Tabla 3.10 Resumen de datos de resiliencia**

MESES	MUESTRAS			
	A	B	C	PATRON
0	5	5	5	5
1	4	5	5	4
2	4	4	5	4
3	3	4	5	3
4	3	4	4	3
5	2	4	4	2
6	1	3	4	1
7	1	3	3	1

En la tabla siguiente se muestra la corrida experimental del modelo lineal general de los datos anteriores.

Número de variables dependientes: 1 (resiliencia)
Número de factores categóricos: 2
A=Muestra
B=Mes

**Tabla 3.11 Modelo Lineal General: Resiliencia vs Muestra**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	46,0625	10	4,60625	16,38	0,0000
Residuo	5,90625	21	0,28125		
Total (Corr.)	51,9688	31			



R-Cuadrada = 88,635 por ciento  
 R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 83,2231 por ciento  
 Error estándar del est. = 0,53033  
 Error medio absoluto = 0,361328

Esta ventana resume los resultados de ajustar un modelo estadístico lineal general que relaciona a Resiliencia con 2 factores predictivos. Dado que el valor-P en la primer tabla ANOVA para Resiliencia es menor que 0,05, hay una relación estadísticamente significativa entre Resiliencia y las variables predictoras con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 88,635% de la variabilidad en Resiliencia. El estadístico R-Cuadrada ajustada, el cual es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 83,2231%.

Gráfico Caja y Bigotes

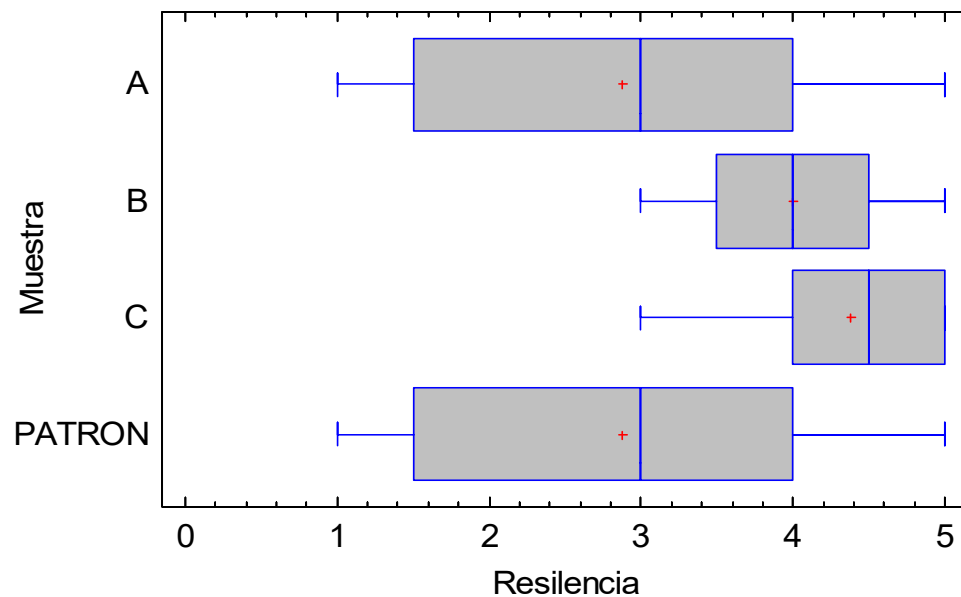


Figura 3.5 Diagrama de cajas de Resiliencia

Lo visto en el diagrama de cajas es similar a lo observado en la suavidad, las muestras B y C difieren de la A y el patrón. Por lo tanto sensorialmente poseen mejores cualidades que las otras 2 muestras tomadas por lo que se puede concluir en base a la serie de pruebas formuladas que la B y C son las muestras optimas para el desarrollo de nuestro aditivo y que cumplen con el objetivo de extender su vida sensorial a los 6 meses.

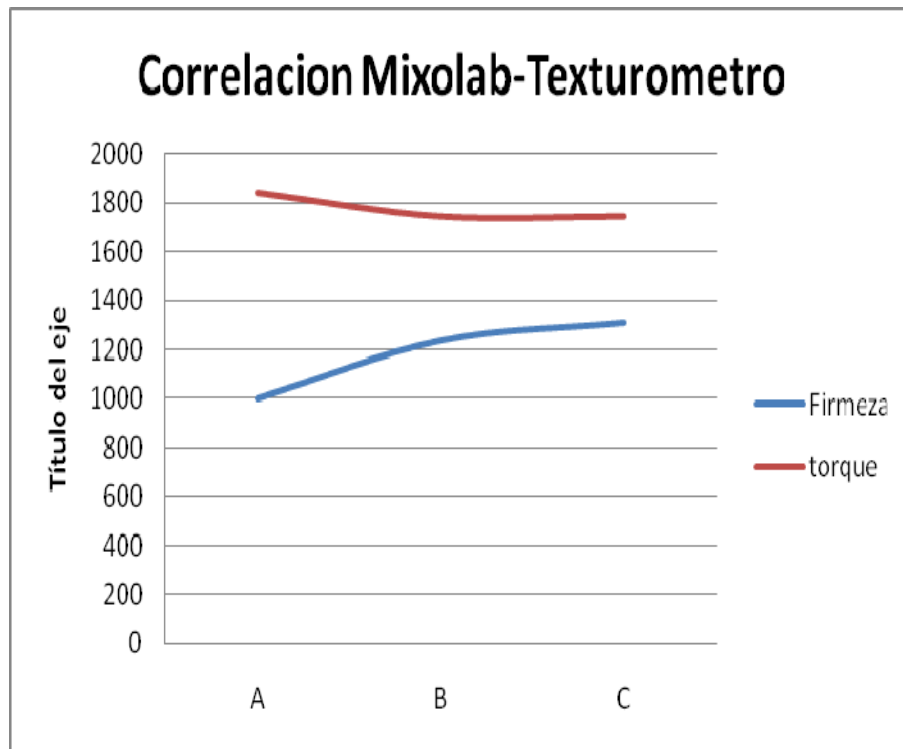
### **3.3. Correlación de resultados.**

De acuerdo a los resultados que se obtienen de los datos del mixógrafo, texturómetro y en los sensoriales y que se exponen estadísticamente en la presente tesis, se evidencia la correlación del comportamiento de cada una de las tres alternativas.

Por lo que se ha sustentado científicamente que las muestras B y C son las que logran alcanzar los seis meses de vida útil, mientras que la muestra A solo llega hasta los tres meses es decir la miga de los panes se endurece.

Se evidencia la sinergia entre las enzimas a partir de la dosis B, también se evidencia que a mayor dosis de maltogénica y el complejo enzimático xilanasas y celulasas se mantiene ligeramente mejor la miga pero tampoco se logra mejorar el tiempo a más de seis meses si seguimos haciendo aumentos de dosis de dichas enzimas como se constata en la muestra C.

A continuación se muestra la relación entre el Mixolab y el texturómetro:



**Figura 3.6 Correlación Mixolab - Texturometría**

### 3.4. Formulación Final.

Una vez verificada y correlacionada la información de las pruebas se establece que existen dos alternativas que superan el aditivo de la competencia que son las alternativas B y C. Siendo la alternativa B la más conveniente, a pesar de no tener diferencia significativa contra la C en el comportamiento de la suavidad del pan, es la mejor opción al lograr el efecto deseado de prolongar la vida útil dos meses mas a la menor dosificación de mezcla posible, lo que la hace la alternativa más viable en costos y en dosificación.

La alternativa escogida es la mostrada en la tabla y la formulación diseñada es la mostrada en la tabla:

**Tabla 3.12 Dosis Escogida**

<b>ALTERNATIVA</b>	<b>B</b>
<b>ALFAMILASA MALTOGENICA</b>	200ppm
<b>XYLANSA-CELULASA</b>	80ppm

A partir de esta dosificación se realiza la formulación del aditivo.

**Tabla 3.13 Formulación de Dosis Escogida**

**Formulación del aditivo con alternativa B**

<b>Ingredientes del Aditivo</b>	<b>g/kg</b>	<b>%</b>
Enzima alfaamilasa maltogenica	0,200	8,00
Complejo enzimatico de xilanasas-celulasas	0,080	3,20
Monodiglicerido (emulsificante)	1,500	60,00
Almidón de maíz (excipiente)	0,050	2,00
Fosfato tricalcico (anticompactante)	0,170	6,80
Harina de trigo (excipiente)	0,500	20,00
<b>Total</b>	<b>2,500</b>	<b>100,00</b>

## CAPITULO 4

### 4. DESARROLLO DEL ADITIVO ENZIMATICO.

Se desarrolla el aditivo enzimatico a nivel industrial haciendo las siguientes consideraciones:

- a. En base a la formulación obtenida de la mejor alternativa a nivel del laboratorio se crea la formulación industrial. Una vez establecida que la mejor opción funcional y en costos es la alternativa B, con ella se crea el tamaño del lote mínimo que se puede elaborar en planta. Se establece que el lote mínimo puede ser una bolsa de 25 kilos.
- b. Se verifica la capacidad instalada y la tecnología disponible. El desarrollo realizado puede ser extrapolado a cualquier planta de mezclado, lo requerido es, contar con mezcladores y con diseño para mezcla de polvos.
- c. Se formular los lotes de acuerdo al punto a. De acuerdo al tamaño del mezclador se hace la formulación del lote.
- d. Se establece, estandarizan y se norman los parámetros de los ingredientes (enzimas, excipientes, otros ) para garantizar una calidad constante. Se crean normas y métodos para recibir las materias primas.
- e. Se estandariza los procesos para la elaboración del aditivo.

- f. Se establecen los controles que se realizarán al producto terminado, análisis, pruebas de aplicación. Se requiere verificar si el mezclado es correcto, se escoge un trazador para tomar muestras en por lo menos dos puntos.
- g. Se analiza la mejor opción de material de empaque para la venta. En este caso se escoge un laminado de polipropileno.
- h. Se presenta el producto en muestras para su prueba en plantas de panificación a nivel industrial de manera que se realicen la aprobación para la compra.

#### **4.1. Formulación y Caracterización de Aditivo.**

El aditivo es diseñado de tal manera que reúna las características necesarias para actuar como inhibidor de la retrogradación del almidón en el pan, principal causa del envejecimiento prematuro del pan. A continuación se detalla la acción de los dos principales factores dentro de la formulación del aditivo y su función específica para que mantenga las características óptimas en el Panetón elaborado.

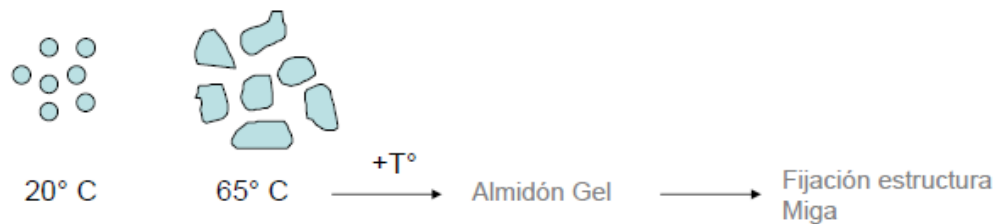
Como es de saber el desarrollo del aditivo a prueba, consiste en dosificaciones de dos tipos de enzimas que actúan en sinergia, una enzima puede generar sustancias nuevas, descomponerlas en sus partes constituyentes, provocar reacciones o cambiarles la estructura, y existe un sustrato para cada enzima.

El papel catalítico de ellas va a depender de ciertos factores como, concentración de la enzima, tiempo de reacción, temperatura, pH, formación del complejo enzima sustrato o el contenido de agua.

Las ventajas que tiene el usar enzimas pueden ser por ejemplo, la diferenciación de la calidad. La cual mejora significativamente en la presentación del producto más que nada, garantiza una calidad consistente en la harina que se utiliza y reduce costos a la vez.

Las enzimas por lo general actúan hasta antes de alcanzar la temperatura de horneado, implícitamente dentro de la gelatinización del almidón evitando rápida fijación de la miga.

A continuación una representación grafica del proceso de actuación de una enzima cualquiera. Todas las enzimas cabe recalcar que continúan su función hasta llegar a su temperatura de inactivación.



**Figura 4.1 Función de enzimas según temperatura**

Para la formulación del producto se toma en cuenta previamente las principales funciones de las enzimas escogidas. A continuación se resume la función de unas cuantas.

**Tabla 4.1 Funciones de enzimas en el pan**

Nombre de enzima	Propiedades
Amilasa fungal/Amiloglucosidasa	Mejoramiento y corrección de la actividad diastásica
Xylanasa- Celulasa/Lipasa/Fosfolipasa	Acondicionamiento de la masa. Tolerancia a la fermentación, favorece retención de gas
Amilasa Maltogenica	Retardadores de envejecimiento
Glucosa oxidasa	Reforzadores de gluten
Proteasas	Debilitamiento de gluten

Se escoge entre ellas la combinación de Amilasa Maltogénica y un complejo de Xylanasa-Celulasa. La función detallada de la amilasa maltogénica es la de cortar las cadenas de almidón, creando dextrinas de bajo peso molecular que impiden las interacciones de retrogradación de las moléculas de almidón y a su vez permite que la levadura trabaje continuamente durante la fermentación de la masa, lo que se traduce a prolongación de vida útil de los productos panificados (suavidad y elasticidad), aparte no produce efecto gomoso ni afecta las propiedades de manipulación de la masa.

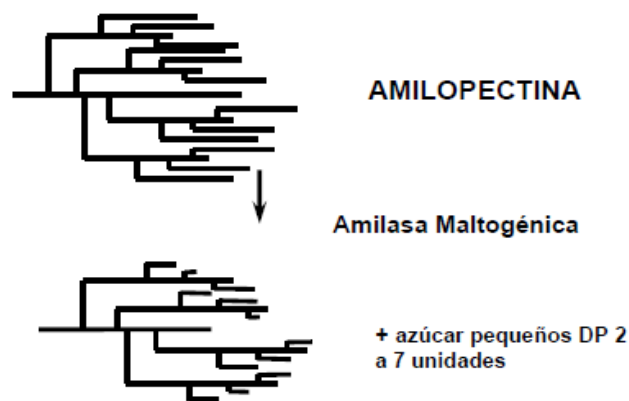


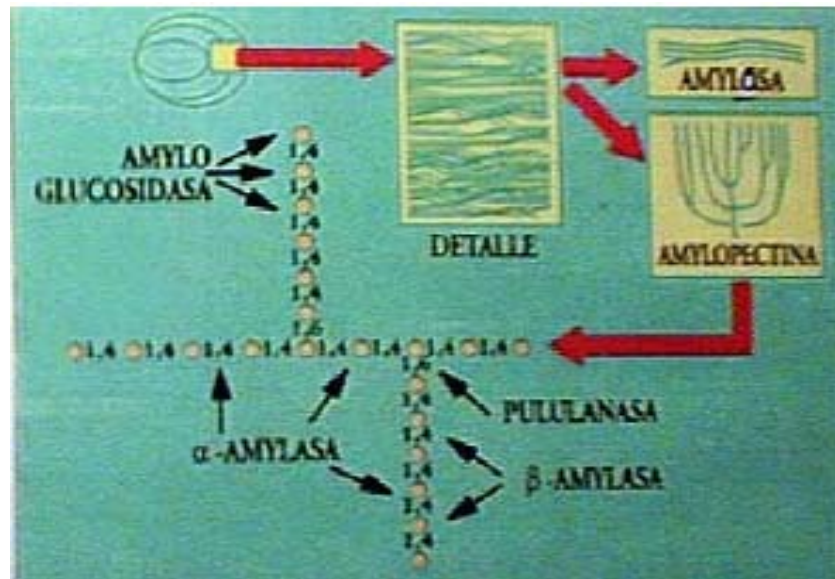
Figura 4.2 Función Amilasa Maltogénica

La figura hace una representación de lo que puede hacer la amilasa maltogénica, se aprecia que existe una miga suave y una retrogradación menor.



Figura 4.3 Esquematización de degradación por amilasa maltogénica





**Figura 4.4 Esquematización de degradación por amilasa maltogénica II**

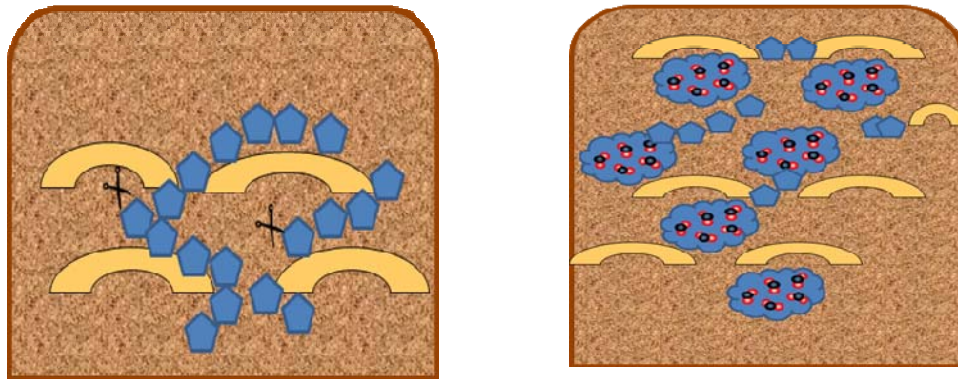
Por otro lado se tiene el complejo xylanasa-celulasa, el cual actuará en la parte de los pentosanos por el efecto de la xylanasa los pentosanos o xilanos constituyen algo más del 3% del total de polisacáridos presentes en las harinas de trigo. Estos polisacáridos tienen la capacidad de absorber agua en cantidades superiores a su propio peso (hasta 10 veces). Son uno de los principales componentes de la fibra dietética y su contenido afecta de gran manera las propiedades reológicas de la masa de harina de trigo y las características de los productos panificables.

La principal propiedad de los pentosanos es su gran capacidad para absorber agua, por lo que pueden formar soluciones altamente viscosas, y se ha demostrado que más del 20% del agua en las masas de harinas de trigo está asociada con los pentosanos. Es importante para evitar el envejecimiento de la miga tener una retención de humedad intercelular apropiada.

La xilana es un pentosano que consiste de unidades de D-xilosa conectadas por enlaces  $1\beta\rightarrow4$ .

La degradación enzimática de polisacáridos se puede realizar mediante dos mecanismos: exo y endo. En el mecanismo exo, el polisacárido es degradado por el retiro sucesivo de los azúcares terminales de la cadena polimérica. En el mecanismo del tipo endo la degradación del polisacárido se produce de manera aleatoria; en las primeras etapas, las moléculas de enzima unidas al sustrato causan rupturas múltiples en el polisacárido y producen fragmentos más cortos, que servirán como sustrato para la siguiente degradación. El uso cuidadoso de las xilanasas pueden mejorar algunas de las características de la masa, sin embargo, un tratamiento de la masa con niveles excesivos de xilanasas ocasionan una pérdida rápida en la fuerza de la masa y produce una masa húmeda y pegajosa.

A continuación se brinda una gráfica con el modo de acción de la xylanasa.



**Figura 4.5 Modo de acción de xylanasa**

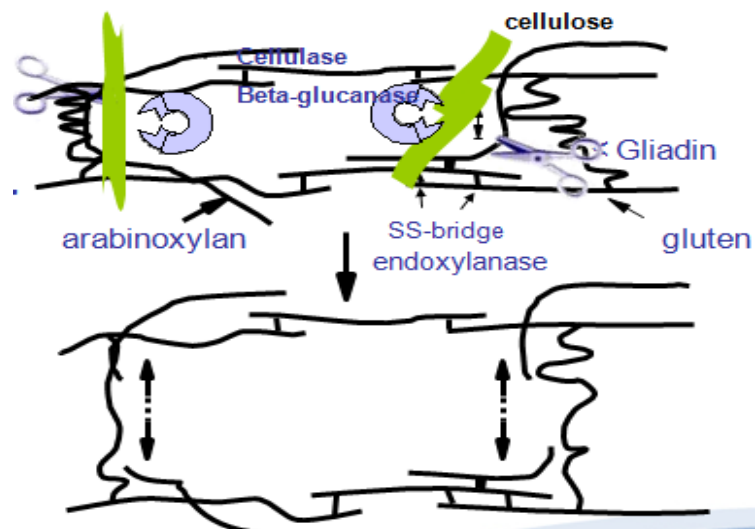
El término celulasas involucra un complejo de, por lo menos, tres actividades diferentes, las que a su vez existen en una multiplicidad de formas para llevar a cabo la hidrólisis total de la celulosa. De esta manera las endo $\beta$ -1,4-glucanasas rompen al azar los enlaces internos de la molécula en las regiones amorfas, producen un rápido decremento en la longitud de la cadena y un lento incremento de los grupos reductores libres.

Las exo  $\beta$ -1,4-gluconasas remueven unidades de glucosa o celobiosa a partir del extremo libre no reductor de la cadena celulosa, dando como resultado un

incremento rápido en los azúcares o grupos reductores y poco cambio en el tamaño del polímero.

Finalmente la  $\beta$ -glucosidasa hidroliza la celobiosa producida por las actividades anteriores, dando como producto final la glucosa.

El efecto de este complejo aparte de acondicionar la masa es de incrementar el volumen específico de los panes, sin provocar un efecto colateral negativo en el manejo de la masa. Este efecto sobre el mejoramiento de volumen del pan puede atribuirse a la distribución de agua de la fase del pentosano presente hacia la del gluten, resultando eventualmente en un mejor horneado.



**Figura 4.6 Modo de acción de Celulasa**

El aditivo enzimático diseñado entonces va evitar el envejecimiento del pan, actuando directamente en su estructura.

#### 4.2. Proceso de elaboración del aditivo

El proceso de elaboración del aditivo se establece en el siguiente diagrama de flujo



Figura 4.7 Diagrama flujo elaboración aditivo Fuente: C. Benavides, 2011

**Recepción y análisis de Materias Primas:** Se recibe las materias primas que son principalmente las enzimas y excipientes (almidón de maíz y harina de trigo), se corrobora su calidad en laboratorio y se aprueba para ser usado en producción.

**Pesado de los ingredientes según formula:** Se pesa los ingredientes de acuerdo a la formulación del lote en balanzas de precisión y se coloca en fundas rotuladas.

**Mezclado de los ingredientes:** Una vez listos los ingredientes se deben dosificar al mezclador en orden del de mayor peso al de menor, así los excipientes almidón y harina van primero y las enzimas son al final. Se procede al mezclado por el tiempo establecido para este tipo de productos.

**Liberación del lote:** Terminado el mezclado se deben tomar las muestras para análisis físico-químico y microbiológico del lote, una vez verificado el correcto de mezclado se libera para envasar y solo cuando estén verificado los microbiológicos es liberado para comercializar.

**Pesado y envasado del producto:** Una vez liberado por calidad se procede al envasado en una área controlada que cumpla con las BPM e inocuidad, se pesan el contenido requerido, se sella y se etiqueta.

**Almacenamiento:** El producto envasado se lo pasa a bodega de almacenamiento en condiciones controladas con una tarjeta amarilla de cuarentena hasta que calidad lo libere por microbiología, luego se quita la tarjeta amarilla por una verde que indica que puede ser comercializado respetando el FIFO y las BPM.

**Comercialización:** Una vez disponible en la bodega de almacenamiento se procede a comercializar.

#### 4.3 Análisis de Costo.

**Tabla 4.2 Resumen de Análisis de Costo**

ANALISIS DE COSTO DEL ADITIVO FORMULADO				
Ingredientes del Aditivo	g/kg	%	Costo/kg	Costo /dosis
Enzima alfaamilasa maltogenica	0,200	8,00	180,000	1440,000
Complejo enzimatico de xilanasa-celulasa	0,080	3,20	39,000	124,800
Monodiglicerido (emulsificante)	1,500	60,00	2,900	174,000
Almidón de maíz (excipiente)	0,050	2,00	0,850	1,700
Fosfato tricalcico (anticompactante)	0,170	6,80	2,290	15,572
Harina de trigo (excipiente)	0,500	20,00	0,650	13,000
<b>Total</b>	<b>2,500</b>	<b>100,00</b>		<b>1769,072</b>
Costo/Kilo USD				17,69
<b>Costo con Margen de 30 % USD</b>				<b>25,27</b>
Costo dosificación al 0,25% aplicación USD				0,06
<b>Costo de competencia USD</b>				<b>22,00</b>
Costo de dosificación al 0,5% aplicación USD				0,11
<b>% Ahorro en dosificación</b>				<b>42,56</b>

De acuerdo a la tabla adjunta se puede evidenciar que el costo de dosificación del nuevo aditivo usando la mezcla de enzimas de la alternativa B, da un ahorro es de 42,56%.

La alternativa C también dio un comportamiento reológico y sensorial óptimo sin tener una diferencia significativa con la muestra B, sin embargo requiere un 25 % más de la enzima malto génica y 50 % más del complejo enzimático, lo cual incrementaría el costo/kilo sin lograr una diferencia notable en vida útil.

Por lo que se concluye que la alternativa B es la mejor opción en costos y funcionalmente y que ha logrado el objetivo de extensión de vida útil.

## CAPITULO 5

### 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

A continuación una vez finalizado y analizado los resultados de este estudio; se obtienen las siguientes conclusiones y recomendaciones relevantes al desarrollo del aditivo enzimático para panes de larga duración:

1. El estudio demuestra que se logra un diseño apropiado de la mezcla de enzimas alfaamilasa maltogénica, xilanasas y celulasas. Esta mezcla enzimática muestra mejores resultados con respecto a la duración o vida útil del pan que los aditivos con ingredientes tradicionales (emulsificantes y gomas) usados en el mercado. Específicamente se logra mejorar la suavidad del producto a partir de la sinergia de estas enzimas que retardan la retrogradación del almidón.
2. De acuerdo a los resultados obtenidos del mixógrafo, texturómetro y las pruebas sensoriales se valida que la mezcla extiende el tiempo de vida útil de 4 a 6 meses sustituyendo el 50 % de emulsificantes con 80 a 120 ppm de complejos enzimáticos (xilanasas, celulasas) y usando enzimas alfaamilasas maltogénicas en dosis de 200 a 250 ppm para evitar la retrogradación del almidón.
3. Se concluye que los resultados del mixolab siguen una tendencia del 98,11% ( $R^2$ ) así como los del texturometro siguen una tendencia de 79,04% ( $R^2$ ) y la de los sensoriales 83,63% ( $R^2$ ) los cuales son respaldados estadísticamente en un nivel de confianza del 95 %, por lo que se puede recomendar la aplicación del aditivo en panes de larga duración como el Paneton.

4. Se concluye que la acción de las enzimas en las dosificaciones estudiadas no interfieren con características sensoriales y físicas del pan como lo son volumen, forma, color de corteza, etc, en un proceso ya establecido y estandarizado.
5. En el análisis de costo de dosificación se pudo observar un ahorro de alrededor del 40% al sustituir el 50% del emulsificante por estas enzimas, lo cual es beneficioso para competir en el mercado desde el punto de vista comercial.
6. Se recomienda que a pesar de los numerosos beneficios, la correcta y eficiente utilización de enzimas en panificación no es sencilla, requiere investigación, interacciones y sinergias que se producen entre ellas y con los demás componentes de la harina y los ingredientes del pan o procesos donde serán aplicadas, por lo que se cree que al momento de considerar la propuesta debe controlarse las condiciones externas.
7. Se recomienda que la industria siga en búsqueda de tecnología ya sea de procesos o de ingredientes que permitan la extensión de vida útil especialmente de aquellos productos más elaborados ya que la problemática de la panadería es que el pan es un producto de vida corta.



# **ANEXOS**

## ANEXO 1

### MEDICION DEL VOLUMEN ESPECÍFICO

Este parámetro fue medido empleando una modificación del método 10-05 de la AACC (2000) propuesta por Lainez (2006) la cual consiste en determinar el volumen del pan por medio del desplazamiento de semillas de mostaza en un recipiente cilíndrico de PVC de 11,5 cm de diámetro y 90 cm de altura (volumen de 8553 cc). El método es el siguiente:

En el cilindro vacío se introducen las semillas y se marcan la altura alcanzada, luego se vacía el cilindro colocando las semillas en otro recipiente. Posteriormente se introduce la unidad de pan al cilindro, se colocan nuevamente todas las semillas y se mide la distancia de desplazamiento de las mismas a partir de las marcas. Finalmente se aplica la siguiente ecuación.

$$V = \pi \times r^2 \times D$$

Donde:

V= volumen del pan en centímetros cúbicos.

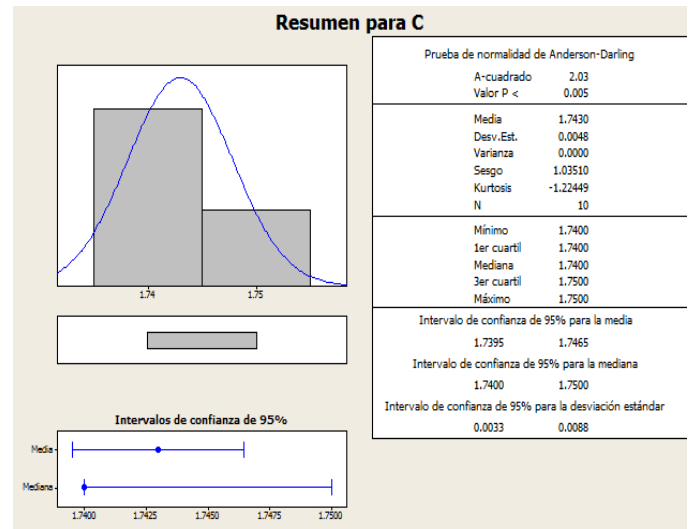
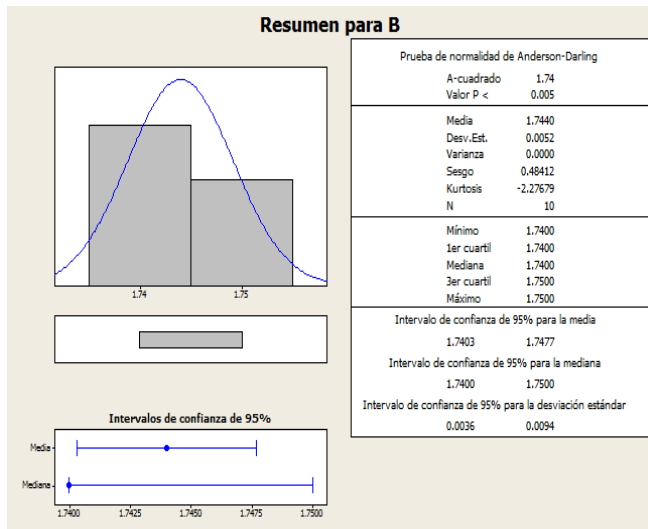
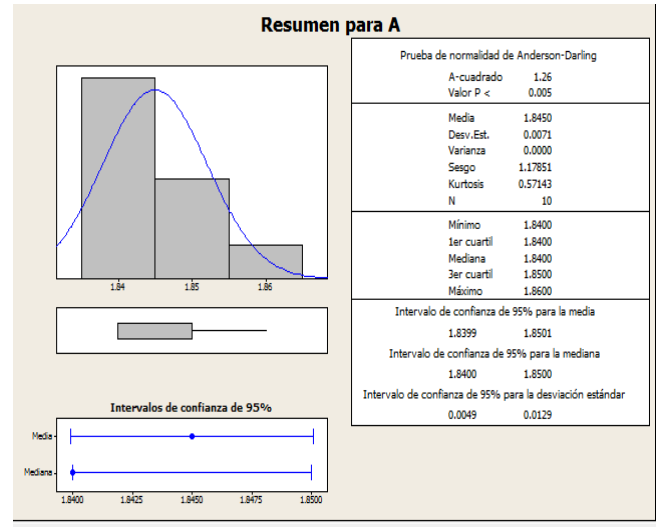
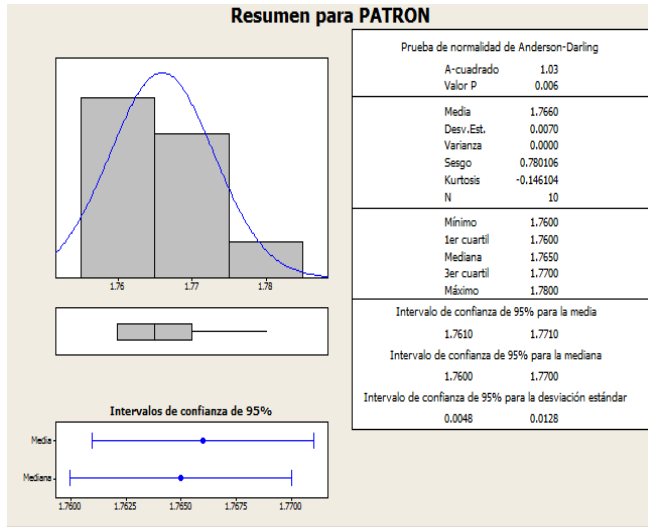
r= radio del cilindro (cm)

D= distancia desplazada desde la marca.

Por otra parte se pesa la unidad de pan. El volumen específico se determina mediante la división del volumen (cc) obtenido entre el peso (g) de la unidad de pan. Esta prueba se hizo por triplicado

# ANEXO 2

## DISTRIBUCIONES NORMALES DE MUESTRAS



# ANEXO 3

## EJEMPLOS DE PICOS DE TEXTUROMETRIA

Load v Time

