UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

CARRERA DE ALIMENTOS

Estudio del efecto de la enzima alfa-amilasa maltogénica sobre el envejecimiento del pan tipo bollo

---

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniero en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Nixon Manuel Garrochamba Peñafiel

Tutor: Dra. Mayra Liliana Paredes Escobar

Ambato - Ecuador

Agosto – 2024

APROBACIÓN DEL TUTOR

Dra. Mayra Liliana Paredes Escobar

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final del Trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 01 de Julio del 2024

Firmado electrónicamente por:
MAYRA LILIANA
PAREDES ESCOBAR

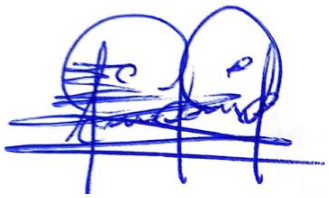
Dra. Mayra Liliana Paredes Escobar

0501873954

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Nixon Manuel Garrochamba Peñafiel, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Nixon Manuel Garrochamba Peñafiel

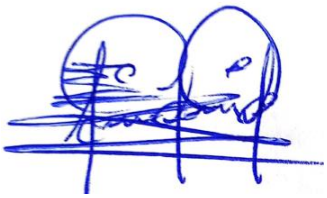
1105663999

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final del Trabajo de titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Nixon Manuel Garrochamba Peñafiel

1105663999

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos profesores calificadores aprueban el Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Firmado electrónicamente por:
ALEX FABIAN
VALENCIA SILVA

Presidente de Tribunal

Firmado electrónicamente por:
MIRARI YOSUNE
ARANCIBIA SORIA

Dra. Mirari Yosune Arancibia Soria

1802142461

Firmado electrónicamente por:
CHRISTIAN DAVID
FRANCO CRESPO

Dr. Christian David Franco Crespo

1717090607

Ambato, 02 de agosto del 2024

DEDICATORIA

Este trabajo de titulación está dedicado en primer lugar a Dios y a la virgen del Cisne, quienes me han dado la fortaleza y salud para poder seguir adelante en cada tropiezo y alegrías durante mi vida universitaria, que me ha dejado las herramientas necesarias para poder desenvolverme en el mundo laboral y poder contribuir mis conocimientos con los demás.

Dedico este logro a mis padres, Hilda y Salomon. Ustedes han sido el modelo de perseverancia y fortaleza que ha iluminado mi camino. Su enseñanza sobre el valor de la constancia y su amor incondicional me han guiado en cada paso de mi formación. Estoy eternamente agradecido por su apoyo en los momentos de éxito y de adversidad, y por facilitarme el sendero en un mundo lleno de retos. Su influencia ha sido fundamental en mi crecimiento y superación. Os quiero.

A mis hermanos y hermanas por demostrar que el amor y el apoyo fraternal son invaluables en cada etapa de la vida. Su aliento y compañía me han sostenido en los momentos y han amplificado la alegría en tiempos de éxito. Agradezco profundamente cada consejo, cada risa compartida, cada gesto de cariño que han hecho de mi camino académico un viaje más agradable y significativo. Su ejemplo de valentía y perseverancia ha sido una fuente de motivación constante, y les agradezco por estar siempre a mi lado, iluminando mi vida con su amor incondicional.

Dedicó este logro a mí mismo. Reconozco y valoro el esfuerzo, la perseverancia y la dedicación que he mostrado a lo largo de este viaje académico. Aprecio cada sacrificio realizado, cada desafío superado y cada momento de incertidumbre enfrentado con determinación.

Nixon Garrochamba

AGRADECIMIENTO

A Dios, cuya guía y fortaleza han sido fundamentales en mi vida. A mis padres por su amor incondicional y su inquebrantable apoyo a lo largo de mi vida y especialmente durante mi trayectoria académica.

A mi abuelita, tíos, hermanos, hermanas y sobrina por sus palabras de ánimo en los momentos difíciles, y por compartir conmigo la alegría de cada logro alcanzado. Les dedico este hito con todo mi agradecimiento y cariño, reconociendo que, sin ustedes, este camino habría sido mucho más arduo.

A la universidad Técnica de Ambato, en especial a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología por brindarme los conocimientos necesarios para mi formación académica y por todas las oportunidades y experiencias enriquecedoras que han sido esenciales para mi crecimiento y desarrollo profesional.

A mi tutora, Dra. Mayra Paredes por su orientación constante y el apoyo incondicional que me ha brindado, así como por proporcionarme las herramientas necesarias para alcanzar mis objetivos académicos. A la Dra. Jaqueline Ortiz, por sus conocimientos compartidos, muestra de liderazgo, motivación continua e influencia positiva en mi aprendizaje y desarrollo personal. Expreso mi gratitud a cada uno de los docentes que contribuyeron a mi crecimiento profesional y personal.

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a la empresa GRANOTEC por su generosa contribución al proporcionarme la enzima alfa amilasa maltogenica para la realización de mi estudio de tesis.

A mis amigos, Juan, Alex, Gabriel, Toby, Evelyn y Jessica por cada gesto de amistad, cada palabra de aliento y cada momento de diversión a lo largo de estos años. Sus risas, consejos y momentos compartidos están en el baúl de los recuerdos y cada uno de ustedes tiene un lugar especial en él.

"La vida es el arte de encontrar belleza en cada paso que damos. Os quiero a todos"

Nixon Garrochamba

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR....ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN....iii
DERECHOS DE AUTOR....iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO....v
DEDICATORIA....vi
AGRADECIMIENTO....vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS....viii
ÍNDICE DE TABLAS....xii
ÍNDICE DE FIGURAS....xiii
RESUMEN EJECUTIVO....xiv
ABSTRACT....xv
CAPÍTULO I.- FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA....1
1.1. Antecedentes....1
1.1.1. Trigo....1
1.1.1.1. Composición nutricional del trigo....1
Almidón....2
Amilosa....2
Amilopectina....2
Proteínas del trigo....3
Gluteninas....3
Gliadinas....4
1.1.1.2. Harinas....4
1.1.2. Panificación....5
1.1.2.1. Ingredientes de una masa panadera....5
Harinas panaderas....5
Semita de trigo....6
Agua....6
Sal....7

Levadura 7
Azúcar 7
Grasas 8
1.1.2.2. Mejoradores de una masa panadera 8
Parámetros de calidad de un pan 8
Envejecimiento del pan 8
Crecimiento de mohos y levaduras en un pan 9
Inhibidores de crecimiento de mohos y levaduras 9
Enzimas termoestables 9
Enzimas α-amilasas maltogénicas 10
1.1.2.3. Etapas de la elaboración de un pan 11
Pesado 11
Autólisis 11
Amasado 11
Plegado 11
Moldeo 12
Fermentación final 12
Horneo 12
1.1.2.4. Pan Bollo 12
1.2. Objetivos 13
1.2.1. Objetivo general 13
1.2.2. Objetivos específicos 13
CAPÍTULO II.-METODOLOGÍA 14
2.1. Materiales 14
2.1.1. Materia prima 14
2.1.2. Materiales de laboratorio 14
2.1.3. Equipos 14
2.2. Métodos 15

2.2.1. Evaluación del efecto de la enzima alfa-amilasa maltogénica sobre la textura del pan tipo Bollo de distintos tiempos de almacenamiento. 15

2.2.1.1. Elaboración del pan tipo Bollo 15

Diseño experimental 17

Textura 17

2.2.2. Analizar los parámetros mixográficos de la masa del pan tipo bollo con adición de la enzima alfa-amilasa maltogénica. 18

2.2.2.1. Análisis mediante mixografía 18

2.2.3. Determinación de las propiedades nutricionales y microbiológicas de la mejor formulación. 19

2.2.3.1. pH y Acidez 19

2.2.3.2. Humedad 19

2.2.3.3. Proteína 20

2.2.3.4. Determinación del contenido de grasa 21

2.2.3.5. Fibra cruda 21

2.2.3.6. Cenizas 22

2.2.3.7. Determinación de carbohidratos 22

2.2.3.8. Análisis de mohos y levaduras 23

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN 24

3.1. Análisis y discusión de resultados. 24

3.1.1. Evaluación de los parámetros de textura del pan tipo bollo a diferentes concentraciones de la enzima alfa amilasa maltogénica. 24

3.1.1.1. Preparación de las muestras de pan tipo bollo con adición de enzima alfa-amilasa maltogénica. 24

Impacto de la enzima alfa-amilasa maltogénica sobre la apariencia del pan tipo bollo. 24

3.1.1.2. Análisis del perfil de textura del pan tipo bollo 26

Dureza 1 26

Dureza 2 28

Cohesividad 29

Masticabilidad 31

3.1.2. Análisis de los parámetros mixográficos de la masa del pan tipo bollo con adición de la enzima alfa-amilasa maltogénica. 33
3.1.2.1. C1 - Índice de absorción de agua 35
3.1.2.2. C2 - Debilitamiento de las proteínas 36
3.1.2.3. C3 - Gelatinización del almidón 36
3.1.2.4. C4 - Actividad amilolítica 37
3.1.2.5. C5 - Retrogradación del almidón 37
3.1.3. Propiedades nutricionales y microbiológicas del mejor tratamiento 38
3.1.3.1. pH y Acidez 38
3.1.3.2. Análisis proximal 39
3.1.3.3. Humedad 39
3.1.3.4. Proteína 40
3.1.3.5. Grasa 40
3.1.3.6. Ceniza 40
3.1.3.7. Fibra cruda 41
3.1.3.8. Carbohidratos 41
3.1.3.9. Análisis de Mohos y levaduras 41
CAPÍTULO IV. — CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 43
4.1. Conclusiones 43
4.2. Recomendaciones 43
MATERIAL DE REFERENCIA 44
ANEXOS 52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos con diferentes porcentajes de la enzima maltogénica. 17
Tabla 2. Listado de ingredientes base para la elaboración del pan tipo Bollo. 17
Tabla 3. Resultados de humedad a diferentes concentraciones de la enzima alfa-amilasa maltogénica. 24
Tabla 4. Formulación del pan tipo bollo con adición de la enzima alfa-amilasa maltogénica..... 26
Tabla 5. Resultados de dureza 1 al día 1, 7, 15 y 30 en un pan tipo bollo elaborado a diferentes concentraciones de enzima alfa amilasa maltogénica. 27
Tabla 6. Resultados de dureza 2 al día 1, 7, 15 y 30 en un pan tipo bollo elaborado a diferentes concentraciones de enzima alfa amilasa maltogénica. 28
Tabla 7. Resultados de cohesividad al día 1, 7, 15 y 30 en un pan tipo bollo elaborado a diferentes concentraciones de enzima alfa amilasa maltogénica. 30
Tabla 8. Resultados de masticabilidad al día 1, 7, 15 y 30 en un pan tipo bollo elaborado a diferentes concentraciones de enzima alfa amilasa maltogénica. 32
Tabla 9. Resultados del análisis mixográfíco de la mezcla de harina de trigo, salvadillo de trigo y diferentes concentraciones de la enzima alfa amilasa maltogénica. 34
Tabla 10. Análisis de la acidez y pH del tratamiento al 1% de la enzima alfa-amilasa maltogénica sobre el pan tipo Bollo. 39
Tabla 11. Análisis proximal del pan tipo Bollo de la mejor formulación de la enzima alfa-amilasa. 39
Tabla 12. Resultado de los análisis de mohos y levaduras a los 30 días, del tratamiento T3 perteneciente el 1% de la enzima alfa-amilasa maltogénica. 42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Carbohidratos esenciales en la formación del almidón. 3
Figura 2. Funcionalidad de las proteínas del gluten..... 52
Figura 3. Contribución de la enzima alfa-amilasa maltogénica en la panificación..... 10
Figura 4. Diagrama de procesos para la elaboración del pan tipo bollo. 16
Figura 5. Análisis de mixografía de harinas de grano entero y la relación con la calidad..... 18
Figura 6. Efecto de la enzima alfa-amilasa maltogénica sobre la apariencia del pan tipo bollo, en donde a, b y c representan los tratamientos T1, T2 y T3. 25
Figura 7. Valores de dureza 1 obtenidos a diferentes tiempos de almacenamiento y en formulaciones de diferente concentración de enzima..... 27
Figura 8. Valores de dureza 2 obtenidos a diferentes tiempos de almacenamiento y en formulaciones de diferente concentración de enzima..... 29
Figura 9. Valores de cohesividad obtenidos a diferentes tiempos de almacenamiento y en formulaciones de diferente concentración de enzima. 31
Figura 10. Valores de masticabilidad obtenidos a diferentes tiempos de almacenamiento y en formulaciones de diferente concentración de enzima. 33
Figura 11. Mixograma del mejor tratamiento T3, (1% de enzima sobre 1 kg de harina). 33

RESUMEN EJECUTIVO

En la actualidad, el pan sigue siendo un componente esencial de la dieta a nivel global. Sin embargo, cada año se desechan millones de toneladas de pan debido al endurecimiento excesivo y la pérdida de textura crujiente, provocados por la recristalización del almidón. En respuesta a este desafío, la investigación sobre mejoradores enzimáticos ha cobrado mayor relevancia, destacándose su capacidad para retardar el envejecimiento prematuro de las propiedades organolépticas del pan. En este contexto, el objetivo de esta investigación fue estudiar el efecto de la enzima alfa-amilasa maltogénica sobre el envejecimiento del pan tipo bollo. El proceso se enfocó en la elaboración de pan con distintas concentraciones de la enzima. Tras la obtención de los productos, se realizaron análisis reológicos y pruebas de textura durante un periodo de 30 días, con el fin de determinar el tratamiento más efectivo. A partir del tratamiento óptimo, se llevó a cabo un análisis proximal para evaluar su composición nutricional y un análisis microbiológico para identificar mohos y levaduras tras 30 días de almacenamiento a temperatura ambiente. Los resultados indicaron que la enzima mejoró la extensibilidad, elasticidad, viscosidad, hidratación y estabilidad de la masa. Además, durante el almacenamiento de 30 días, contribuyó a reducir la dureza, masticabilidad y cohesividad del pan en comparación con el pan de control. Asimismo, los análisis de composición proximal y microbiológicos confirmaron que el pan tipo bollo cumple con los estándares técnicos de calidad, asegurando su inocuidad como producto final.

Palabras clave: Tecnología de alimentos, industria panadera, Alfa-amilasa maltogénica, amilosa, envejecimiento del almidón.

ABSTRACT

Today, bread remains an essential component of the global diet. However, millions of tons of bread are discarded each year due to excessive hardening and loss of crispness caused by starch recrystallization. In response to this challenge, research on enzymatic improvers has become more relevant, highlighting their ability to delay the premature aging of bread organoleptic properties. In this context, the objective of this research was to study the effect of the enzyme maltogenic alpha-amylase on the aging of bun-type bread. The process focused on the elaboration of bread with different concentrations of the enzyme. After obtaining the products, rheological analysis and texture tests were carried out for a period of 30 days to determine the most effective treatment. From the optimal treatment, a proximate analysis was carried out to evaluate its nutritional composition and a microbiological analysis to identify molds and yeasts after 30 days of storage at room temperature. The results indicated that the enzyme improved the extensibility, elasticity, viscosity, hydration and stability of the dough. In addition, during the 30-day storage, it contributed to reduced hardness, chewiness and cohesiveness of the bread compared to the control bread. Likewise, proximate composition and microbiological analyses confirmed that the bun-type bread complies with technical quality standards, ensuring its safety as a final product.

Keywords: Food technology, bakery industry, maltogenic alpha-amylase, amylose, starch aging.

CAPÍTULO I.- FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1.1. Antecedentes

El pan es el alimento más consumido y uno de los que más se desecha a nivel mundial, según Ponce Ramírez et al., (2016). Cada año, se rechazan millones de toneladas de pan duro en todo el mundo. Dymchenko et al., 2023) detallan que las pérdidas de este alimento se deben al aumento significativo de la firmeza de la miga y a la disminución de la textura crujiente, dando como resultado un corto tiempo de vida útil. Por ello Pérez, (2022) menciona, que el objetivo de buscar nuevas técnicas y tratamientos que logren posponer el envejecimiento del pan radica en la conservación del producto durante el almacenamiento, es decir, en esta etapa la miga se recristaliza, lo que provoca el deterioro del pan. En la actualidad existen una gran variedad de enzimas, las cuales contribuyen a la modificación de las propiedades organolépticas de los alimentos. Entre ellas se encuentran las enzimas alfa-amilasas termoestables, las cuales ayudan a controlar las características sensoriales del alimento, proporcionando al pan una excelente fermentación de la masa, estabilidad, mejor volumen, una estructura de miga más fina y blanca, color de corteza intensificado y un alto estado nutricional del producto (Dahiya et al., 2020)**.**

1.1.1. Trigo

El trigo es un cereal con alta demanda a nivel global, cubre alrededor del 20 % de la ingesta alimentaría mundial, proporciona energía y proteínas en la dieta diaria (Kettlewell et al., 2023)**.** Ramírez Estrada et al., (2017) mencionan que la domesticación del trigo (*Triticum aestivum*), está relacionado con la necesidad del ser humano por permanecer en un sitio y alimentarse. Actualmente, el trigo es la base para la elaboración de una gran variedad de alimentos dentro del área de panificación, repostería, pastelería y pastas. El mejoramiento de este cereal ha contribuido a elevar la calidad del grano, otorgándole un mayor valor nutricional en fibra, minerales y vitaminas, mismos que son fundamentales en la elaboración de un producto alimenticio (Igrejas & Branlard, 2020)**.**

1.1.1.1. Composición nutricional del trigo

Según Coral & Gallegos, (2015) conocer las propiedades nutritivas al igual que la cantidad de constituyentes de los alimentos es fundamental para equilibrar el aporte de almidón, lípidos, gluten,

celulosas, proteínas y algunos aceites indispensables en una dieta. Iqbal et al., (2022) detallan que los componentes del trigo, como el almidón, oscila de entre 70 a 75%, proteína entre 8 a 14%, grasas 2 %, minerales entre 0.7 a 1.5%, fibra entre 12 a 15 % y un contenido menor de vitaminas como la tiamina y la riboflavina.

Almidón

El almidón, considerado como un macronutriente, juega un papel esencial en las industrias de panificación en la actualidad. Es empleado como la fuente principal en la elaboración de pan, pastas y galletas, por lo que se le considera un subproducto importante de la producción de gluten. Aproximadamente el 70% del almidón se encuentra en el endospermo del trigo, lo que significa que su cantidad influirá directamente en las características de procesamiento y desempeño de la harina (Kim & Kim, 2021). Además, los gránulos de almidón están ubicados en el endospermo y contienen como unidad básica la glucosa. Esta glucosa puede formar una estructura lineal independiente mediante enlaces glicosídicos α-1,4. Estas cadenas lineales poseen ramificaciones también formadas por glucosa mediante enlaces glicosídicos α-1,6, lo que resulta en la formación de dos polímeros llamados amilosa y amilopectina (An et al., 2021).

Amilosa

Polisacárido formado por unidades de glucosa que se encuentran unidos por enlaces glicosídicos α-1,4. Este carbohidrato representa aproximadamente del 20 al 30% del almidón y su funcionalidad es formar geles a temperaturas elevadas. Además, puede formar estructuras helicoidales cristalinas que influyen en la firmeza y textura de ciertos alimentos como panes, pasteles, galletería, etc. durante el enfriamiento y almacenamiento, proceso que se conoce como envejecimiento (Nivelle et al., 2019).

Amilopectina

La amilopectina es una cadena ramificada de unidades de glucosa conectada por enlaces alfa-1.4 glicosídicos en las cadenas lineales y con enlaces ocasionales alfa-1,6 glicósidos en los puntos de ramificación. Se encuentra en muchos alimentos de origen vegetal como el trigo, arroz y el maíz y representa del 70 al 80% del almidón. Su funcionalidad dentro de la industria alimentaria es ampliamente

usada como estabilizador, espesante o agente gelificante en productos de panificación, helados, entre otros, debido a su alta solubilidad en agua a una temperatura elevada (Nivelle et al., 2019).

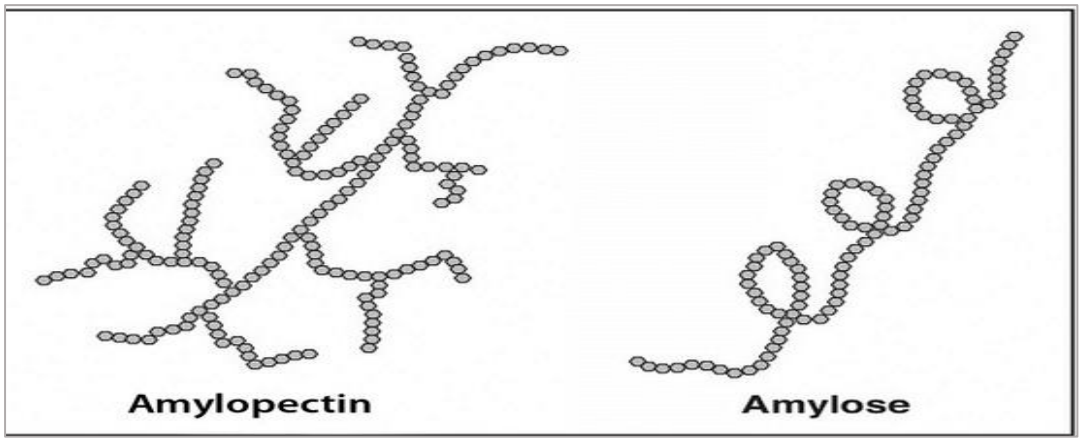


Figura 1. Carbohidratos esenciales en la formación del almidón.
Nota: El almidón está compuesto por la amilosa y la amilopectina, carbohidratos esenciales dentro de la industria alimentaria. Adaptado de Kim & Kim, (2021).

Proteínas del trigo

El trigo es una fuente primordial de proteínas que actúan como componentes esenciales dentro de la reología de la masa y contribuyen a la estructura de la red de gluten, brindándole propiedades viscoelásticas (Call et al., 2020)**.** Caminero & Verdu, (2019) reportan al gluten como la parte restante al momento de eliminar la parte soluble en agua, las mismas que juegan un rol importante en las características organolépticas de la harina panadera. Además, el gluten está constituido por proteínas como la glutenina y gliadina, las cuales son responsables de las propiedades físicas de la red del gluten, (Koga et al., 2017)**.** Ortolan et al., (2022) menciona que la calidad tecnológica del gluten está asociado a su contenido proteico y a sus características químicas y estructurales.

Gluteninas

Son proteínas poliméricas que se encuentran unidas por enlaces disulfuro, representan entre el 30 a 40% total de la proteína del gluten y son responsables de la resistencia y elasticidad de la masa (Koga et al., 2017)**.** Zhang et al., (2021) mencionan que estas proteínas poseen una forma fibrosa, delgada y una gran superficie y capacidad de unión entre moléculas. Además, Ortolan et al., (2022) detallan que las gluteninas se mezclan aleatoriamente con las gliadinas para formar la red de gluten, las mismas que se mantienen mediante enlaces disulfuro junto con interacciones no covalentes.

Gliadinas

Son proteínas monoméricas que contribuyen a la viscoelasticidad de la masa y se encuentran presentes en el gluten entre un 60 a 70% (Koga et al., 2017)**.** Zhang et al., (2021) detallan que la gliadina posee una forma globular con una superficie pequeña y una débil capacidad de unión a moléculas. Ortolan et al., (2022) menciona que este tipo de proteína actúa como plastificante de la glutenina para bajar los altos niveles de elasticidad y contribuir a la extensibilidad de la red de gluten, además, cabe resaltar que las gliadinas contienen enlaces disulfuro intramoleculares, interacciones hidrofóbicas y enlaces puente de hidrógeno.

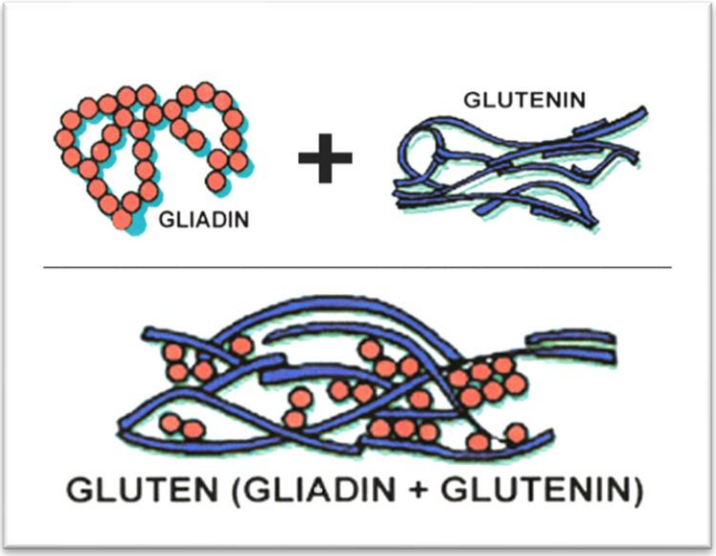


Figura 2. Funcionalidad de las proteínas del gluten.

Nota: La gliadina y la glutenina son encargadas de viscoelasticidad de una masa panadera. Adaptado de (Balakireva & Zamyatnin, 2016).

1.1.1.2. Harinas

Según Saatloo et al., (2023) la harina de trigo es el constituyente fundamental dentro de la línea de productos panificados, que suministra alimentos en todo el mundo. Es el componente primario que influye las características organolépticas, sensoriales y estructurales de diferentes tipos de productos panaderos, reposteros y pastas. Estas propiedades técnicas funcionales según Fierens et al., (2015) se debe al tiempo de reposo, pues en esta etapa se da la oxidación mediante los enlaces disulfuro y

contribuye en presencia de oxígeno al bloqueamiento de los compuestos aromáticos que no permiten el desarrollo del gluten como los tioles.

Asimismo, el resultado después de un proceso de molienda de la harina es fundamental para las industrias molineras, ya que las características de calidad serán el ingrediente principal para la elaboración de alimentos de horneo. Por ende, tanto el trigo, la harina, la masa y productos horneados son sometidos a pruebas fisicoquímicas, químicas y sensoriales con el objetivo de mantener una trazabilidad estándar (Yazar, 2023).

1.1.2. Panificación

Los productos de panificación han venido siendo desde siglos pasados hasta la actualidad el sustento de alimentación por parte de la humanidad, por lo que este alimento ha experimentado una evolución constante durante años e integrándose en la cultura de cada nación, llegando así a tener hoy en día una gran variedad dentro del área de panificación (Moore, 2016). Por otra parte, Ahuja et al., (2022) detallan que este alimento tiene como ingrediente general la harina de trigo, agentes leudantes y agua, sin embargo, este producto puede ser enriquecido con otros tipos de harinas, huevos, leche, sal, grasas y azúcar, con la finalidad de aportar al alimento características organolépticas y nutricionales de calidad.

1.1.2.1. Ingredientes de una masa panadera

Harinas panaderas

La harina blanca proveniente de trigos duros es muy empleada para la elaboración de panes, debido a que poseen una red de gluten fuerte y viscoelástica (Marti et al., 2015). Asimismo, Doreen et al., (2017) definen que para los productos panaderos las harinas deben poseer características reológicas (elasticidad, viscoelasticidad y extensibilidad) de calidad porque serán fundamentales para el desarrollo del volumen y textura del pan, estas dos características demostrarán que la harina contiene una gran cantidad de proteínas (gluteninas y gliadinas) contenidas en el gluten.

Semita de trigo

La semita o salvadillo de trigo es considerado un subproducto de la molienda del trigo, proveniente de múltiples capas del pericarpio y representa de un 15 a 20 %, mientras que lo demás está constituido por el germen y el endospermo del grano. El 10% del salvadillo, es empleado actualmente para complementar la alimentación humana a nivel mundial, para ello, se están fabricando productos panaderos y desayunos con cereales que contiene este subproducto en contribución a la salud, mientras que el restante es empleado en la alimentación animal (Saini et al., 2023).

Onipe et al., (2021) detallan que, el salvadillo de trigo está constituido por una gran cantidad de fibra dietética (45 g por cada 100 g de salvadillo), vitaminas B1 y B2, minerales y compuestos bioactivos, sin embargo, este producto contiene fibra insoluble, enzimas endógenas, y anti nutrientes que provocan efectos negativos en los panes, como es la baja retención de gas, agua, y una viscoelasticidad mala, lo cual afecta la textura y volumen del pan. También es importante destacar que este tipo de harina contribuye a la microbiota intestinal y a un riesgo menor de padecer enfermedades cardiovasculares y metabólicas.

Agua

El agua desempeña un papel crucial en el desarrollo del gluten. Por lo tanto, para hidratar correctamente una masa, es importante agregarla gradualmente, utilizando la técnica conocida como "bassinage". El porcentaje de hidratación dependerá del contenido de fibra, almidón dañado y proteína en cada tipo de harina. Por lo general, en harinas blancas se emplea una hidratación del 65 al 75%, mientras que para harinas integrales se requiere una hidratación del 78 al 85% (Carrero & Rodríguez, 2021). Kimbell, (2017), menciona que la función del agua radica en disolver y dispersar la sal, el azúcar y la levadura. Además, es responsable de la consistencia de la masa y es necesaria para la fermentación y la reproducción de microorganismos. Asimismo, la temperatura del agua también juega un papel importante en la obtención de una masa adecuada, por lo que se puede alterar con el objetivo de obtener la masa deseada.

Sal

Este producto es fundamental para impartir sabor al pan, por lo que se recomienda una proporción del 0.50 al 2% sobre el peso de la harina. Sin embargo, la sal también contribuye a la tenacidad de la estructura del gluten, lo que permite que la masa retenga eficientemente el dióxido de carbono (Kimbell, 2017). Uno de los problemas asociados con la falta de sal es la formación de una masa floja y pegajosa. Además, la sal tiene un efecto retardante sobre la actividad de las levaduras, ya que es higroscópica y absorbe fácilmente la humedad de la pared celular de la levadura, lo que resulta en un consumo más lento de los azúcares y, por consiguiente, en una fermentación más lenta. Finalmente, la sal contribuye a preservar el color del pan y el sabor de la harina, ya que retarda la oxidación de la masa (Carrero & Rodríguez, 2021).

Levadura

Los microorganismos unicelulares son activados en condiciones óptimas para su desarrollo, que incluyen humedad, oxígeno, alimento y temperatura adecuados. La reproducción de estos microorganismos mediante la fermentación alcohólica implica la conversión de azúcares en alcohol y dióxido de carbono por parte de la levadura, mientras que la fermentación láctica se produce a través de la conversión de bacterias en ácido láctico (Kimbell, 2017).

Las condiciones necesarias para el desarrollo de estos microorganismos dentro de la masa se originan debido a la presencia de agua y oxígeno, este último generado durante el amasado. Además, se requiere una temperatura que oscile entre 30 y 35 °C durante el proceso de leudado de la masa, así como el alimento necesario para los microorganismos, conocido como "azúcares fermentables". Estos azúcares son el resultado de la conversión de los almidones por las enzimas amilasas presentes en la harina y su pH oscila entre 4 a 6 (Kimbell, 2017).

Azúcar

El azúcar es un ingrediente higroscópico que se utiliza para alimentar a las levaduras durante la fermentación (Carrero & Rodríguez, 2021). No obstante, también aporta sabor a las masas y contribuye al color y a una corteza más fina del pan. Además, mejora la textura y retrasa el envejecimiento del pan al ayudar a retener la humedad en su interior.

Grasas

Las grasas utilizadas en la elaboración de productos de panadería pueden ser de origen animal o vegetal. Su función principal dentro de las masas es recubrir las hebras de gluten durante el amasado para lograr que los productos resultantes sean más tiernos. Además, estas grasas contribuyen a la textura de la miga del pan y ayudan a prolongar su vida útil (Carrero & Rodríguez, 2021). (Kimbell, (2017) detalla, entre las grasas más comúnmente empleadas se encuentran la manteca y la mantequilla de origen animal. Estas grasas se caracterizan por su aroma y color atractivos, lo que contribuye tanto al color, sabor del pan y a la retención de humedad en el producto final.

1.1.2.2. Mejoradores de una masa panadera

Son catalizadores que se encuentran en todas las células de las especies vivas y son responsables de las reacciones bioquímicas, además, en la actualidad son empleadas para la producción de alimentos y medicinas (Kermasha & Eskin, 2021)**.** Uçak & Afreen, (2022) mencionan que las enzimas se encuentran estructuradas por una larga cadena de aminoácidos unidos a un enlace péptido y su actividad depende del sustrato, pH y temperatura. Asimismo, Robinson, (2015) detalla que las enzimas son proteínas globulares, las cuales contienen desde menos de 100 hasta más de 2000 aminoácidos, permitiendo así cadenas polipeptídicas que se pliegan y se doblan para formar la estructura tridimensional y el sitio activo, lugar donde se une el sustrato).

Parámetros de calidad de un pan

Envejecimiento del pan

El envejecimiento del pan se da desde el momento en que termina la etapa del horneo, en el cual el pan empieza a perder sus atributos fisicoquímicos y sensoriales y, por ende, reduce el valor comercial del alimento. Este fenómeno se da debido a que los componentes principales del almidón: amilosa y la amilopectina, sufren una recristalización a baja temperatura (Woo et al., 2020)**.** Arp et al., (2020) detallan que la retrogradación de la amilosa y de la amilopectina es la reorganización de las moléculas con una pérdida del agua, lo cual ocasiona el endurecimiento de la miga del pan. Sin embargo, Rahman et al., (2022) mencionan que no son los únicos factores que se encuentran involucrados en el deterioro del pan, ya que dentro del tiempo de la vida útil de este alimento se encuentra también involucrado el

deterioro químico (rancidez de grasas) y microbiológicos (proliferación de microorganismos en diferentes fases de preparación).

Crecimiento de mohos y levaduras en un pan

La parte microbiológica dentro de un pan es esencial, ya que este alimento es afectado directamente por el crecimiento de mohos y levaduras en un corto tiempo. En el caso de los mohos es perjudicial debido a que crea micotoxinas, los cuales son muy nocivos para el consumidor. Uno de los problemas para provocar el crecimiento de este microorganismo es empacar el pan caliente haciendo que la humedad se sitúe en el interior del empaque y forme un medio apto para el crecimiento del moho *Rhizopus nigricano,* (Moore, 2016; Rahman et al., 2022). En el caso de las levaduras, su participación dentro del deterioro del pan es también significativa, ya que ocurre durante el enfriamiento y provoca un olor alcohólico o esteárico, el cual es provocado por las levaduras fermentativas como la *Candida milleri* y por levaduras filamentosas como las *Saccharomycopsis fibuligera,* las cuales se muestran como puntos blancos en la superficie del pan al crecer en colonias blancas. (Moore, 2016; Rahman et al., 2022)**.**

Inhibidores de crecimiento de mohos y levaduras

Los inhibidores de crecimiento de mohos y levaduras son ampliamente utilizados en la industria panadera, dado que el deterioro causado por microorganismos conlleva considerables pérdidas a nivel mundial. Por este motivo, se ha incorporado el uso de ácidos orgánicos, los cuales son reconocidos por completo como seguros por la Administración de Alimentos y Medicamentos (Moro et al., 2022)**.** Entre los más empleados en el ámbito de la panificación, se encuentran el ácido propiónico, cuyo límite varía de 1000 a 3000 ppm según el Reglamento Europeo (CE N.º 2016/283, 2016), y el ácido sórbico, con un límite de 1000 ppm según el Codex Alimentarius. La eficacia de estos inhibidores depende del pH del sustrato, ya que son ácidos débiles que no se disocian completamente en el agua, manteniendo así un pH bajo que inhibe el crecimiento microbiano (Moro et al., 2022)**.**

Enzimas termoestables

Se caracterizan por ser muy resistentes a elevadas temperaturas (30 – 120 °C) y por vivir en ambientes donde las personas no podrían existir, como lo son el *Bacillus, Clostridium, Pyrococcus, Thermus y Thermotoga,* estos microorganismos producen enzimas que son empleadas para la elaboración de una

gran gama de alimentos y productos biotecnológicos, entre las enzimas producidas tenemos la α-amilasa, lipasa, celulasa, xilanasa, fosfatasa alcalina, polimerasa y ligasa (Che Hussian & Leong, 2023). Rigoldi et al., (2018) mencionan que las enzimas termófilas soportan presiones elevadas de hasta de 250 atm y condiciones extremas de pH en presencia de sales, por lo que poseen una mayor resistencia a la desnaturalización y a la proteólisis.

Enzimas α-amilasas maltogénicas

Son enzimas que ayudan a hidrolizar los enlaces (1→4) - α-D-glucosídicos en amilosa y amilopectina, permitiendo así que se libere la maltosa del extremo no reductor (Silano et al., 2018). Por otra parte, Woo et al., (2020) detallan que las enzimas maltogénicas son empleadas dentro del área de panificación, debido a que actúan directamente en la retrogradación del almidón por un tiempo prolongado, retardando el envejecimiento del pan y cambios fisicoquímicos en la calidad durante el almacenamiento, como la pérdida de sabor, textura, humedad y volumen.

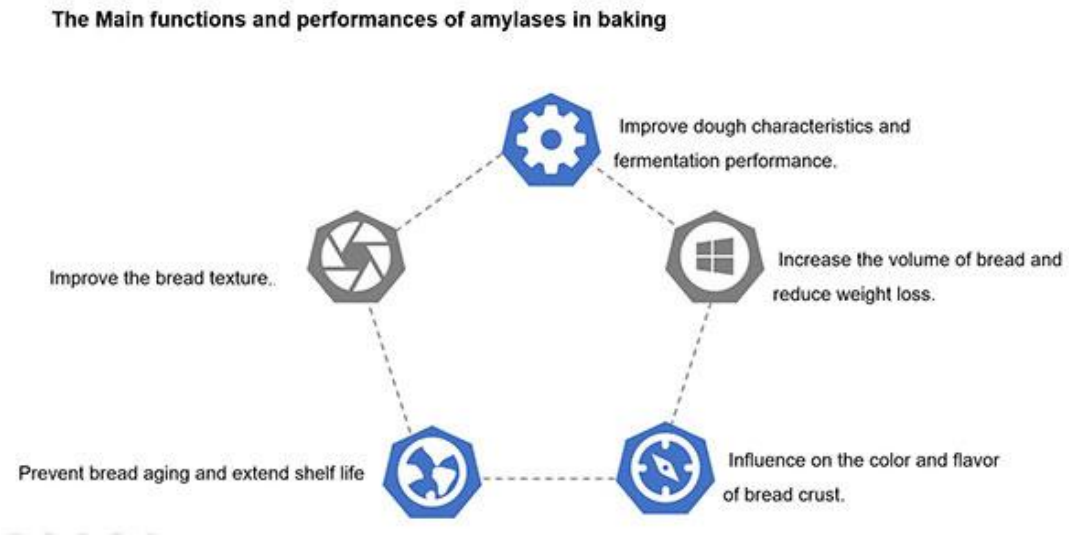


Figura 3. Contribución de la enzima alfa-amilasa maltogénica en la panificación.
Nota: Su funcionalidad se enfoca en las características organolépticas del pan. Adaptado de (Yeast, 2022).

1.1.2.3. Etapas de la elaboración de un pan

Pesado

Durante la elaboración de productos de panificación, es indispensable mantener un pesaje preciso con el fin de evitar variaciones en el sabor o inconsistencias en las características organolépticas del pan. Un error en esta etapa afecta directamente la trazabilidad del alimento y los costos de producción (Carrero & Rodríguez, 2021).

Autólisis

La autólisis (tiempo de reposo) es la etapa en donde la masa pasa por la etapa de acondicionamiento. En esta fase permite potenciar el proceso de fermentación debido a que aumenta la difusión del CO_2 provocado por las levaduras y microorganismos. Además, le brinda a la masa volumen y consistencia, ya que afectan a las propiedades reologías del pan y por ende contribuye en el moldeo final del pan, porque cuanto mayor sea el reposo mayor será el cambio estructural en la masa (Jha et al., 2017)**.**

Amasado

En esta etapa empieza la formación de la red de gluten a partir de las proteínas, las cuales son las encargadas de brindar a la masa la consistencia y la elasticidad. Las moléculas de gluten se estiran y alinean en hileras casi rectas, llegando así a darle la fuerza a la masa. Una de las funciones primordiales del desarrollo adecuado del gluten es atrapar el dióxido de carbono que se produce durante la fermentación, obteniendo así un pan ligero y con adecuado volumen (Parenti et al., 2021)**.**

Plegado

La desgasificación de la masa marca la diferencia entre un pan mediocre y uno de calidad. Por ello, la eliminación del exceso de dióxido de carbono producido por la levadura es indispensable para una fermentación adecuada. Además, permite distribuir de manera uniforme la masa y le otorga fuerza. Entre los aspectos importantes a considerar, se encuentra el cuidado de no incorporar harina adicional durante el plegado, ya que esto podría provocar la formación de líneas grises en el pan después del horneado (Kimbell, 2017).

Moldeo

Según Carrero & Rodríguez, (2021) El formado o moldeado comienza después de que la masa ha reposado durante un período determinado (entre 15 y 30 minutos) y puede ser manipulada. Si la masa no está relajada, podría sufrir desgarros en su estructura debido a la tensión. Por otra parte, al moldear la masa de pan, esta adquiere su forma característica, que puede ser redonda, triangular, alargada como un baguette, entre otras opciones. Finalmente, las piezas moldeadas se colocan en bandejas para dar inicio al proceso de fermentación.

Fermentación final

La fermentación final se basa exclusivamente en el adecuado crecimiento del pan. Un mal leudado se reflejará directamente en el sabor y la apariencia del pan. Por lo tanto, se establece que, para obtener un pan de buena calidad, el porcentaje de leudado debe oscilar entre el 85% y el 90% antes de comenzar la cocción. Si se permite que el pan leude al 100%, el gluten se debilitará y como consecuencia se obtendrá un pan acidificado, extendido y con apariencia opaca (Kimbell, 2017).

Horneo

En esta etapa, el pan ingresa a una temperatura de 22 a 26 °C para experimentar cambios físicos y enzimáticos. Uno de los primeros cambios es la expansión de la masa hasta los 35 °C, junto con la actividad de las enzimas en la superficie de la masa, lo que resulta en la coloración de la masa debido a la conversión de los almidones en oligosacáridos (dextrinas) (Kimbell, 2017). Cuando la temperatura interna del pan alcanza los 50 °C, las levaduras mueren, mientras que el almidón de trigo comienza a gelatinizarse a los 60 °C. A los 90 °C, la gelatinización y la actividad enzimática culminan. Además, es importante señalar que cuando el pan alcanza una temperatura interna de 99 °C, comienza la coloración de la corteza. Finalmente, entre los 100 y 177 °C, tiene lugar la reacción de Maillard y la formación de aldehídos y cetonas, lo que contribuye al sabor y aroma del pan (Carrero & Rodríguez, 2021).

1.1.2.4. Pan Bollo

Este tipo de pan es originario de la ciudad de Loja, sin embargo, en la actualidad ha ido perdiendo campo dentro del consumo local, debido a que la gran parte de producción de pan están fabricadas con

premezclas. Este alimento está constituido por dos tipos de harina, salvadillo de trigo y harina blanca de trigo, además contiene: azúcar, agua, levadura, manteca, huevos y esencia de vainilla. Entre sus atributos resalta el color marrón oscuro y su sabor característico dulce (Quichimbo, 2023)**.**

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

- Evaluar el efecto de la enzima alfa-amilasa maltogénica sobre el envejecimiento del pan tipo Bollo.

1.2.2. Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la enzima alfa-amilasa maltogénica sobre la textura del pan tipo Bollo de distintos tiempos de almacenamiento.
- Analizar los parámetros mixográficos de la masa del pan tipo bollo con adición de la enzima alfa-amilasa maltogénica.
- Determinar las propiedades nutricionales y microbiológicas del mejor tratamiento.

CAPÍTULO II.-METODOLOGÍA

2.1. Materiales

2.1.1. Materia prima

- Harina de trigo
- Semita
- Manteca
- Mantequilla
- Levadura
- Azúcar
- Agua
- Huevos
- Enzima alfa-amilasa maltogénica
- Propionato de Calcio

2.1.2. Materiales de laboratorio

- Bowls
- Cucharas
- Espátulas
- Bandejas
- Pocillo
- Pinza
- Balón de aforo
- Puntas micropipetas
- Mortero
- Papel film
- Papel filtro
- Vasos de precipitación
- Fundas ziploc

2.1.3. Equipos

- Balanza analítica
- Balanza infrarroja

- Cámara de fermentación
- Batidora
- Horno
- Mixolab Chopin
- Medidor de pH
- Texturometro
- Medidor de pH
- VELP SCIENTIFICA Dumas

2.2. Métodos

2.2.1. Evaluación del efecto de la enzima alfa-amilasa maltogénica sobre la textura del pan tipo Bollo de distintos tiempos de almacenamiento.

2.2.1.1. Elaboración del pan tipo Bollo

El desarrollo de un pan tipo Bollo se realizó siguiendo la metodología descrita por Quichimbo, (2023)**.** El proceso combina ingredientes básicos como harina de trigo, semita de trigo, agua, levadura y panela, que, tras amasado y fermentado, dan lugar a una estructura adecuada para obtener el pan deseado, tras la etapa de horneo. Este proceso se realizó a presión atmosférica, su diagrama de procesos se muestra en la Figura 4.

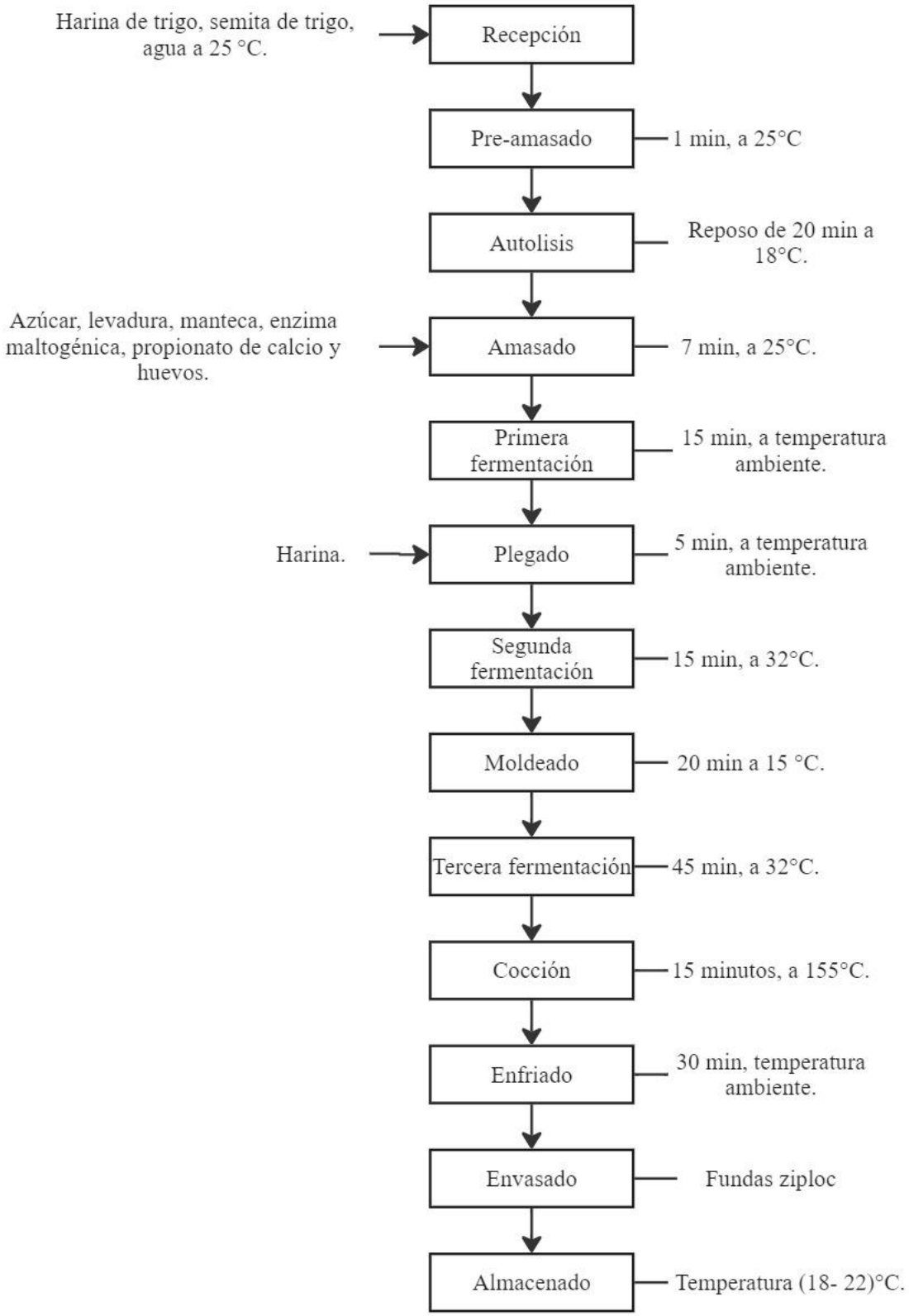


Figura 4. Diagrama de procesos para la elaboración del pan tipo bollo.

Nota: Los tiempos de cada etapa pueden variar dependiendo la calidad de la harina. Adaptado de (Quichimbo, 2023)**.**

Diseño experimental

Para la elaboración del pan se empleó un diseño de bloques completos al azar para estudiar el efecto de la enzima alfa-amilasa maltogénica sobre la textura del pan tipo bollo a diferentes concentraciones.

Tabla 1.

Tratamientos con diferentes porcentajes de la enzima maltogénica.

Tratamiento	**Enzima**	**Inhibidores**
	Maltogénica (g/kg)	Propionato de calcio (g/kg)
T1	--------	-------
T2	0,05	2
T3	1	2

Tabla 2.

Listado de ingredientes base para la elaboración del pan tipo Bollo.

Materiales	**Cantidad**	**Unidad**
Harina de trigo	4	kg
Azúcar	1	kg
Manteca	0,5	kg
Mantequilla	0,5	kg
Levadura	0,08	kg
Semita	0,2	kg
Panela	0,2	kg

Nota: Adaptado de (Quichimbo, 2023)**.**

Textura

Para determinar la textura del pan tipo bollo se empleó la metodología del manual de uso del equipo Texturometro Brookfield CT3. Para el test se empleó el APT con una deformación del (50%), Los parámetros utilizados fueron sonda TA4/1000, velocidad de 2 mm/s, carga de activación de 5 g,

elemento TA-BT-KIT y 2 ciclos. Las variables evaluadas fueron dureza 1, dureza 2, masticabilidad y la cohesividad. Este análisis se llevó a cabo en los días uno, siete, quince y treinta días.

2.2.2. Analizar los parámetros mixográficos de la masa del pan tipo bollo con adición de la enzima alfa-amilasa maltogénica.

2.2.2.1. Análisis mediante mixografía

El análisis reológico se llevó a cabo utilizando el equipo Mixolab CHOPIN Technologies, el cual permitió evaluar los índices de gluten, absorción, amasado, viscosidad, actividad de amilasa, gelatinización y retrogradación de las masas del pan tipo bollo en tiempo real. Para ello, se mantuvo una temperatura constante para evaluar las características de amasado, mientras que al aumentar la temperatura en la masa se analizó el debilitamiento de la proteína, y al enfriarse, se estudió la retrogradación del almidón. Esta evaluación se realizó siguiendo la metodología descrita en el manual del equipo, conforme a la norma AACC 54-60-01.

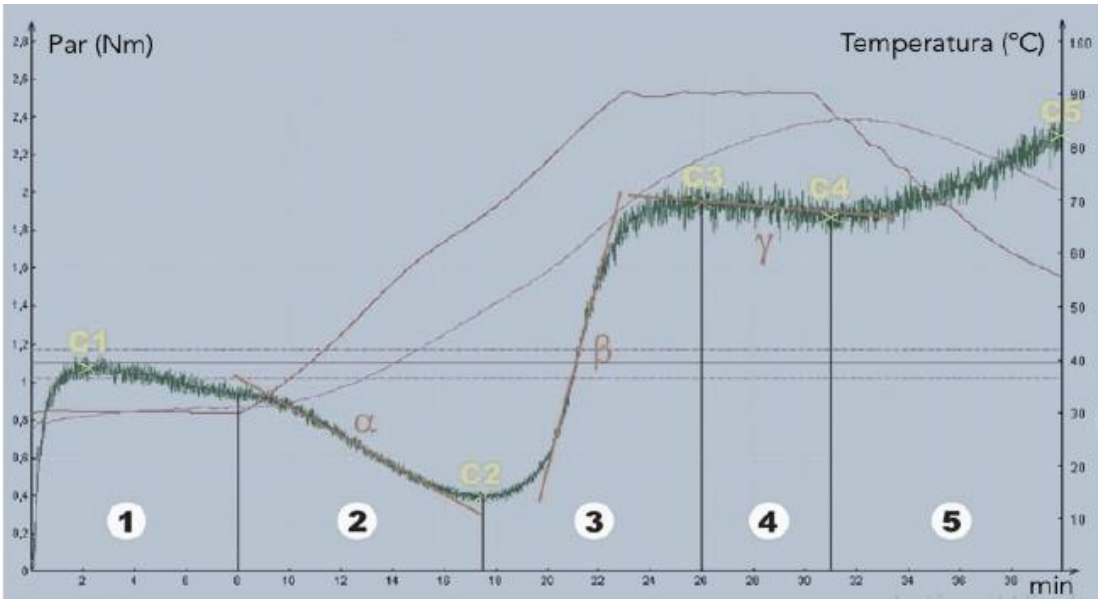


Figura 5. Análisis de mixografía de harinas de grano entero y la relación con la calidad.
Nota: Adaptado de (Salvador, 2019)**.**

2.2.3. Determinación de las propiedades nutricionales y microbiológicas de la mejor formulación.

2.2.3.1. pH y Acidez

Según la metodología descrita por la AOAC 981.12, (2005) para la determinación de pH se debió pesar 10 g de la muestra en un vaso de precipitación de 250 ml, y colocar 100 ml de agua destilada, luego de este paso se homogeneizó durante un minuto y se filtró con la ayuda de papel filtro. Finalmente, se tomó lectura del pH con la ayuda del equipo FISHER SCIENTIFIC, AB200, EE.UU. En el caso de la acidez se empleó la metodología descrita por la (AOAC 942.15, 2005). Para lo cual se procedió a pesar 10 g de la muestra y se homogeneizó con 200 ml de agua destilada en un vaso de precipitación de 250 ml. luego se filtró con la ayuda de un papel filtro y se procedió a pesar 25 ml de la alícuota y se aforó hasta 100 ml de agua destilada en un matraz de 200 ml. Finalmente, se procedió a titular colocando tres gotas de fenolftaleína e hidróxido de sodio a 0.1 N. Este análisis se realizó por triplicado y la acidez se determinó mediante la ecuación 1.

$$\mathrm{A} = 0.090\frac{\mathrm{V} * \mathrm{N}}{\mathrm{m}} * 100 \qquad \text{Ecuación (1).}$$

Donde:

A: Acidez titulable.

V: Hidróxido de sodio empleado.

N: Normalidad de NaOH (0.1N).

m: Peso de la muestra (g).

2.2.3.2. Humedad

Para la determinación de humedad, se siguió la metodología AOAC 930.15, (2000) para lo cual se trituró 5 g de pan y se procedió a tomar 3g de la muestra, luego se llevó a la estufa a una temperatura controlada de 105 °C por 24 h, posteriormente se retiró la muestra seca y se colocó en el desecador por 30 minutos hasta alcanzar una temperatura ambiente para finalmente pesar la muestra seca. Este análisis se realizó por triplicado y se reemplazaron en la ecuación 2 para la determinación de la humedad.

$$\%\mathrm{H} = \left(\frac{m_1 - m_2}{m}\right) * 100 \qquad \text{Ecuación (2).}$$

Donde:

%H: sólidos totales en porcentaje de masa.

$\boldsymbol{m_1}$**:** peso de la capsula más la muestra húmeda (g).

$\boldsymbol{m_2}$**:** peso de la capsula más la muestra húmeda (g).

m: masa de la muestra húmeda (g).

2.2.3.3. Proteína

Para la determinación de proteína se empleó la metodología de Dumas descrito por (Romero, 2023). Para este análisis se verificó los parámetros de configuración del equipo: temperatura del reactor de combustión a 1030 °C, temperatura del reactor de reducción a 650 °C, caudal MFC1 He a 190 mL/min, caudal MFC2 He a 220 mL/min. Después se acondicionó el sistema con 2 EDTA estándar y de 2 a 3 láminas de estaño vacías y se verificó la curva de calibración con una o más pruebas como estándar, probando el mismo estándar utilizado para la creación de la curva.

A continuación, se homogeneizó las muestras entre 30 a 50 mg y se comprimieron en papel aluminio en forma de cápsula, posteriormente se empleó el equipo VELP SCIENTIFICA para la cuantificación de proteína, en el cual con el primer reactor de combustión se quemó las muestras sólidas a 1030 °C llegando a generar dióxido de nitrógeno, dióxido de carbono, oxígeno y agua indeseada, la misma que interferirá en el análisis, por ello, se empleó trampas de agua y un colector de cenizas que eliminó productos no deseados.

Finalmente, una corriente de gas impulsada por helio, fue, dirigida a un segundo reactor lleno de cobre a una temperatura de 650 °C, el cual redujo el dióxido de nitrógeno a nitrógeno y se empleó trampas de agua y un colector de cenizas, posteriormente, pasó por un tercer reactor el cual detectará la señal del nitrógeno para finalmente cuantificar la cantidad de nitrógeno contenido en la muestra por diferencia entre el flujo inicial y final del helio. El porcentaje de proteína determinará el equipo mediante el factor de conversión 6.25.

2.2.3.4. Determinación del contenido de grasa

Para la determinación de grasa se empleó el extractor Soxhlet de la marca Velp Scientific, para lo cual se procedió a pesar 1 g de muestra en el papel filtro, para después ser ubicado en el dedal de celulosa. Posteriormente, se colocó el dedal en el equipo junto con los vasos de precipitación de 60 ml. Después se llevó a ebullición a 130 °C por una hora, seguidamente se le hizo recircular el disolvente por 30 min. Luego de este tiempo se abrió las válvulas de la cámara de recuperación y se procedió a recoger el disolvente por 30 min. Finalmente, se colocó las muestras en una estufa a 96 °C hasta alcanzar la temperatura ambiente y se procedió a pesar la muestra en la balanza. Este análisis está basado en el método de AOAC 920.39.B, (2003) y se calculó el porcentaje de grasa mediante la siguiente ecuación 3.

$$\%\mathrm{G} = \frac{(\mathrm{m}_1 - \mathrm{m}_2)}{\mathrm{m}} * 100 \quad \text{Ecuación (3).}$$

Donde:

$\%\boldsymbol{G}$**:** porcentaje de grasa en (g)

$\boldsymbol{m_1}$**:** peso del vaso vacío en (g)

$\boldsymbol{m_2}$**:** peso del vaso con grasa tras la extracción en (g)

$\boldsymbol{m}$**:** peso de la muestra antes de la extracción

2.2.3.5. Fibra cruda

Se determinó el contenido de fibra mediante un extractor semiautomático Velp Scientific y siguiendo el protocolo (AOAC 985.29, 1986). El procedimiento se inició con la toma de 0.5 g de la muestra desengrasada por duplicado en un crisol. Posterior a ello se añadió ácido sulfúrico al 1.25 % hasta la muesca de 150 ml. Luego se dejó hervir por 30 minutos desde el inicio de la ebullición y se conectó al vacío para drenar el ácido sulfúrico, para finalmente lavar tres veces con agua desionizada, conectando cada vez el aire comprimido para agitar el contenido del crisol.

A continuación, se colocó 150 ml de hidróxido de sodio al 1.25% y se le llevó a ebullición por 30 minutos, luego se conectó al vacío para drenar el hidróxido de sodio, para finalmente lavar tres veces con agua desionizada, conectando cada vez el aire comprimido para agitar el contenido del crisol.

Finalmente, se retiró los crisoles y se colocó en la estufa a 105 °C por una hora, luego se retiró y se enfrió en un desecador hasta llegar a temperatura ambiente. Posterior a esta etapa se pesó y se llevó a estufa a 550 °C durante tres horas y se volvió a pesar después de dejar enfriar en un desecador. La determinación de la fibra se realizó mediante la ecuación 4.

$$\% \, F = \frac{F_1 - F_2}{Fo} * 100 \qquad \text{Ecuación (4).}$$

Donde

% F = Porcentaje de fibra cruda (%).

F_1 = Masa del crisol posterior a la estufa (g).

F_2= Masa del crisol posterior a la mufla (g).

Fo = Masa de muestra (g).

2.2.3.6. Cenizas

Según la norma NTE INEN 520, (2012) para la determinación de cenizas se pesará 1 g de la muestra de pan y se colocará en un crisol previamente tarado, posterior a ello, se colocará en la mufla a 550 °C hasta obtener cenizas de color blanco y finalmente se colocará en un desecador por 30 minutos, para luego ser pesado la muestra final, Esta determinación se realizará por triplicado y se calculará el contenido de cenizas mediante la ecuación 5.

$$\%\text{Cenizas} = \frac{P_1 - P_0}{P} \text{ x } 100 \qquad \text{Ecuación (5).}$$

Donde:

P: masa de la muestra (g).

P_1: masa del crisol con las cenizas (g).

P_0: masa del crisol vacío (g).

2.2.3.7. Determinación de carbohidratos

Para la determinación del contenido de carbohidratos en el pan tipo bollo se efectuó mediante la diferencia entre los componentes de grasa, fibra, ceniza, humedad y proteína. El porcentaje de carbohidratos se realizó mediante la ecuación 7.

$$\%C = 100 - (\text{grasa} + \text{fibra} + \text{ceniza} + \text{humedad} + \text{proteína}) \qquad \text{Ecuación (6).}$$

2.2.3.8. Análisis de mohos y levaduras

De acuerdo con la norma NTC 4132, (1997), para la determinación de mohos y levaduras se tomó 10 g de la muestra de pan para ser diluida en 90 ml de agua peptonada para obtener una dilución 1^{-1}, posteriormente se tomó 1 ml de esta dilución, para preparar la dilución 10^{-2} para ser completado con 9 ml de agua peptonada. Luego, se vertió en cada placa inocua por triplicado 0.01 ml de esta dilución. Finalmente, se colocaron de manera invertida en la incubadora a 28°C durante 5 días y se procedió a realizar un control a los 2 días y a los 5 días para verificar la presencia de mohos y levaduras. Para el cálculo del número de unidades propagadoras de mohos y levaduras se determinó mediante la siguiente ecuación.

$$\text{UFC} = \frac{\#\text{ de colonias observadas} * \text{Inverso de la dilución}}{\text{Volumen inoculado}} \qquad \text{Ecuación (7).}$$

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y discusión de resultados.

3.1.1. Evaluación de los parámetros de textura del pan tipo bollo a diferentes concentraciones de la enzima alfa amilasa maltogénica.

3.1.1.1. Preparación de las muestras de pan tipo bollo con adición de enzima alfa-amilasa maltogénica.

La homogeneización de las muestras compuestas de harina de trigo y enzima alfa-amilasa maltogénica se realizó cuatro veces el cuarteo y para comprobar su efecto se evaluó la humedad de la mezcla, los resultados se presentan en la Tabla 4, donde se puede observar que el porcentaje de error de las repeticiones es menor a 10, por tanto, las muestras son homogéneas.

Tabla 3.

Resultados de humedad a diferentes concentraciones de la enzima alfa-amilasa maltogénica.

Tratamiento	Muestras	Humedad
T1	Blanco	12.41
		12.45
		12.49
T2	0.05%	12.42
		12.46
		12.49
T3	1%	12.6
		12.6
		12.6

Nota: La humedad de cada tratamiento se determinó por triplicado mediante la balanza infrarroja de marca Citizen.

Impacto de la enzima alfa-amilasa maltogénica sobre la apariencia del pan tipo bollo.

La adición de la enzima alfa–amilasa maltogénica influyó sobre la apariencia del pan tipo bollo, la Figura 3 muestra fotos de los panes obtenidos a partir de las formulaciones con las distintas concentraciones de enzima, dónde se observa tanto una diferencia de altura como de color. Conforme

aumenta el contenido de enzima presente en el pan tipo bollo, mayor es la altura y coloración, estos resultados son similares a aquellos reportados por Rodríguez, (2023), el cual obtiene una mayor coloración y altura en panes de caja elaborados en México.



Figura 6. Efecto de la enzima alfa-amilasa maltogénica sobre la apariencia del pan tipo bollo, en donde a, b y c representan los tratamientos T1, T2 y T3.

Nota: El pan tipo bollo fue elaborado a partir de la formulación mostrada en la Tabla 4 obtenida mediante experimentación y a la cual se le añadió la mezcla homogénea de harina de trigo y enzima alfa-amilasa maltogénica.

La diferencia de altura y color podría deberse a la función principal de la enzima alfa-amilasa maltogénica, que descompone el almidón en azúcares. Esta enzima hidroliza las cadenas de carbohidratos para crear principalmente maltosa, facilitando así la metabolización por parte de las levaduras, lo que contribuye a una textura más esponjosa del pan, una corteza más oscura, fermentación uniforme (Silano et al., 2018; Woo et al., 2020). Por otro lado, la variación en la tonalidad de las muestras podría ser atribuida a la cantidad de azúcar producida por la enzima maltogénica, ya que a temperaturas altas se produce la reacción de Maillard, lo que origina una variación en la tonalidad del pan tipo bollo en función de la concentración de la maltosa liberada.

Tabla 4.

Formulación del pan tipo bollo con adición de la enzima alfa-amilasa maltogénica.

Ingredientes	Porcentaje (%)
Mezcla de harina de trigo, salvadillo y enzima	49.65
Manteca	8.29
Levadura	1.16
Azúcar	17.5
Huevos	11.6
Agua	11.6

Nota: Los porcentajes mostrados son calculados en base húmeda.

3.1.1.2. Análisis del perfil de textura del pan tipo bollo

La evaluación de la textura del pan tipo bollo elaborado a distintas concentraciones de enzima alfa-amilasa maltogénica (T1, T2, y T3) se realizó mediante la ejecución del perfil de textura con dos ciclos de compresión. Se determinó dureza 1, dureza 2, cohesividad y masticabilidad. Los resultados de los parámetros son mostrados en las Tablas 5, 6, 7 y 8 y Figuras 7, 8, 9 y 10. Las mediciones se realizaron al día 1, 7, 15 y 30 posterior a su horneo.

Dureza 1

Guiné et al., 2020; Talens, (2017) detallan que la dureza 1 representa la fuerza máxima ejercida en el primer ciclo de compresión o la fuerza necesaria para comprimir una comida entre los dientes o entre el paladar y la lengua. Los resultados de dureza 1 obtenidos en el presente estudio se indican en la Tabla 5, los cuales muestran una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre cada tratamiento (T1, T2 y T3) a los días 1 y 7. Sin embargo, al día 15 se observó una diferencia significativa únicamente en el tratamiento T3. Respecto al día 30, los tratamientos T2 y T3 mostraron una diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto al T1. En general, conforme a los resultados obtenidos, un incremento de la concentración de la enzima disminuye la dureza 1 del pan tipo bollo (Ver Figura 7) en todos los tiempos de almacenamiento estudiados. Los resultados de dureza 1 alcanzados en este estudio varían entre 1000-3000 g para el día 1, 2500-6000 g para el día 7, 3000-6000 g para el día 15 y de 3500-7200 g a los 30 días, estos resultados son más altos a los reportados por Rodríguez, (2023), que indica una dureza 1 de 649.6 g en rebanadas de pan con una concentración menor de enzima en el día 1, y a los conseguidos por Chen et al., (2021), de 509.9-1530 g en el día 15. Las diferencias entre los resultados obtenidos y

los reportados bibliográficamente pueden deberse a la formulación utilizada en el estudio y el tipo de harina, pues, la formulación del presente estudio contiene 15% de salvadillo, lo cual hace que la textura sea más dura (Pérez, 2022). No obstante, en la presente investigación se obtuvo una disminución en la dureza 1 del 13.33% en el T2 y del 35.84% en el T3 comparado con la muestra blanco de la misma formulación, en un tiempo de almacenamiento de 30 días (ver Tabla 5).

Tabla 5.

Resultados de dureza 1 al día 1, 7, 15 y 30 en un pan tipo bollo elaborado a diferentes concentraciones de enzima alfa amilasa maltogénica.

		Muestras		
Parámetro	**Día**	**T1**	**T2**	**T3**
Dureza 1 (g)	1	2762.5 ± 436.18^{a}	1612.2 ± 191.06^{b}	1267.1 ± 106.04^{c}
	7	5880.70 ± 1110.36^{a}	4268.3 ± 623.23^{b}	3177.40 ± 856.53^{c}
	15	5856.30 ± 1391.89^{a}	4870.80 ± 750.10^{a}	3533.9 ± 453.28^{b}
	30	7137.7 ± 833.89^{a}	5404 ± 1611.64^{b}	4073.9 ± 806.66^{b}

Nota: Los resultados son la media ± desviación estándar de diez mediciones. Los superíndices a, b y c representan grupos diferentes.

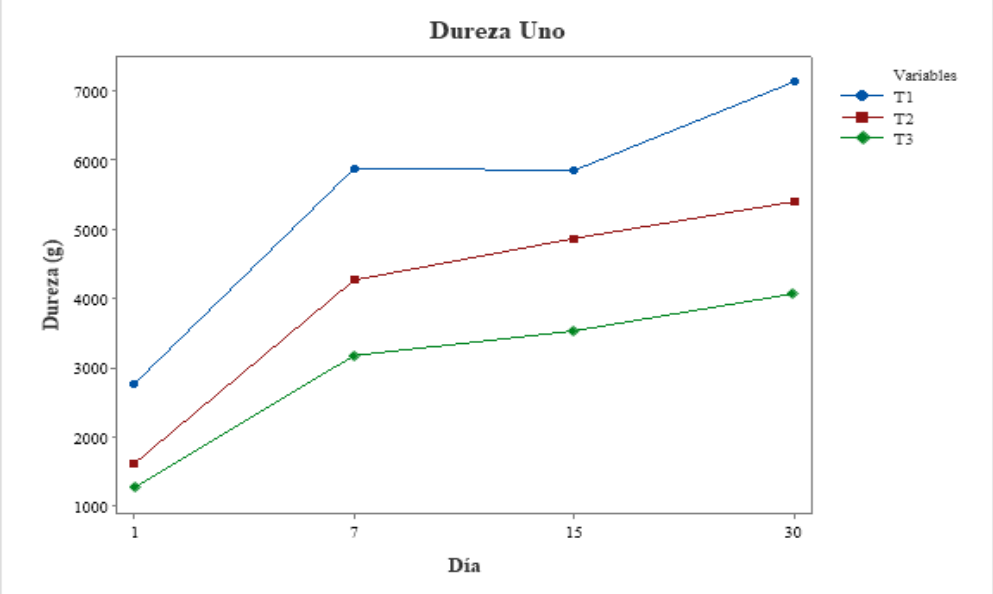


Figura 7. Valores de dureza 1 obtenidos a diferentes tiempos de almacenamiento y en formulaciones de diferente concentración de enzima.

Nota: Los tratamientos T1, T2 y T3 representan al Blanco, 0.05 y 1% de enzima.

Los resultados de Dureza 1 mostrados en la Figura 7, indican un efecto positivo para disminuir el parámetro mientras se aumenta la concentración de enzima y el tiempo de almacenamiento. Esto puede ser explicado porque la enzima alfa amilasa maltogénica actúa sobre el almidón, hidrolizando la molécula, lo cual reduce el proceso de retrogradación de la amilosa (Pérez, 2022).

Dureza 2

Yailet & Carvajal, (2016) mencionan que la evaluación del perfil de textura se realiza mediante dos ciclos, en la cual se simula el comportamiento de masticación del alimento mediante una doble compresión, es decir cada ciclo se asemeja a cerrar y abrir la quijada y los resultados de la dureza 2 siempre serán inferiores a los de la dureza 1 debido a la desintegración del alimento. Los resultados de dureza 2 obtenidos en el presente estudio e indicados en la Tabla 6, muestran una diferencia significativa ($p<0.05$) en el tratamiento T2 y T3 con respecto al T1 al día 1, al día 7 se observó una diferencia significativa entre cada tratamiento T1, T2, y T3, mientras que al día 15 se obtuvo una diferencia significativa en el tratamiento T3 y finalmente, al día 30, los tratamientos T2 y T3 mostraron una diferencia significativa ($p< 0.05$) con respecto al T1. Los datos obtenidos revelan que un incremento de la concentración de la enzima disminuye la dureza 2 del pan tipo bollo (Ver Figura 8) en todos los tiempos de almacenamiento estudiados. Los resultados de dureza 2 alcanzados en este estudio varían entre 1200-2300 g para el día 1, 2500-4800 g para el día 7, 2700-5000 g para el día 15 y de 300-5200 g a los 30 días, estos resultados son diferentes y más altos a los reportados por Rodríguez, (2023), el cual obtiene una dureza 2 de 407.9 g en rebanadas de pan con la enzima en el día 1.

Tabla 6.

Resultados de dureza 2 al día 1, 7, 15 y 30 en un pan tipo bollo elaborado a diferentes concentraciones de enzima alfa amilasa maltogénica.

		Muestras		
Parámetro	**Día**	**T1**	**T2**	**T3**
Dureza 2 (g)	1	2339.9 ± 383.63^{a}	1355.3 ± 187.3^{b}	1120 ± 160.28^{b}
	7	4775.2 ± 742.83^{a}	3706.7 ± 505.10^{b}	2741.6 ± 763.45^{c}
	15	5083.1 ± 1174.04^{a}	$4067.3\pm577.3.5^{a}$	2895.7 ± 360.28^{b}
	30	5390.4 ± 816.00^{a}	4472.2 ± 1174.04^{b}	3286.3 ± 716.16^{b}

Nota: Los resultados son la media ± desviación estándar de diez mediciones. Los superíndices a, b y c representan grupos diferentes.

Esta diferencia en los resultados obtenidos puede deberse al porcentaje de salvadillo (15%) utilizado en la formulación del estudio realizado, lo cual afecta la textura y estructura de la masa (Chen et al., 2021). Sin embargo, se logró una mejor la textura del pan con la adición de la enzima, pues se obtuvo una disminución en la dureza 2 del 5.17% en el T2 y del 28.98% T3 comparada con la muestra blanco a los 30 días de almacenamiento (ver Tabla 6).

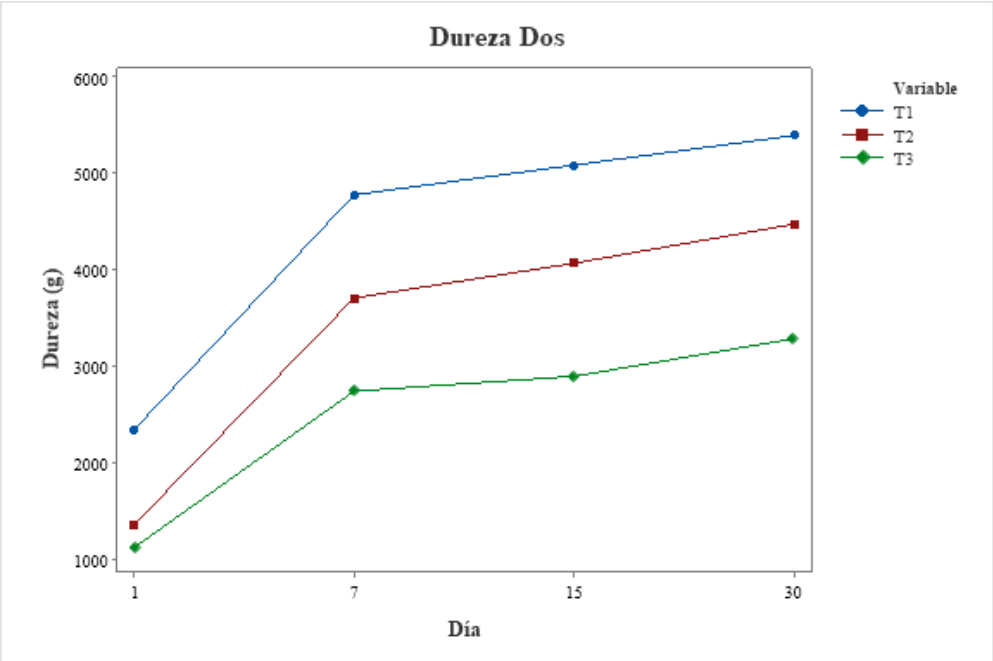


Figura 8. Valores de dureza 2 obtenidos a diferentes tiempos de almacenamiento y en formulaciones de diferente concentración de enzima.
Nota: Los tratamientos T1, T2 y T3 representan al Blanco, 0.05 y 1% de enzima respectivamente.

Los resultados de dureza 2 mostrados en la Figura 8, evidencian una disminución favorable de este parámetro en el tiempo de almacenamiento con el incremento de la concentración de enzima. Este comportamiento se debe a la acción de la enzima para retardar la retrogradación del almidón, pues al hidrolizar su estructura, la retención de agua dentro del pan se mantiene (Woo et al., 2020).

Cohesividad

Guiné et al., 2020; Tóth et al., (2022) detallan que un alimento que presenta alta cohesividad no produce una desintegración del alimento, mientras que a una baja cohesividad durante la masticación el alimento se desintegra. Los resultados de cohesividad obtenidos en el presente estudio se observan en la Tabla 7, donde se muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$) en el tratamiento T3 con

respecto al T1 y T2 al día 1, al día 7 se observó una diferencia significativa entre el tratamiento T2 y T3 con relación al T1, mientras que al día 15 se obtuvo una diferencia significativa en el tratamiento T3 con respecto al T1 y T2 y finalmente, al día 30 el tratamiento T3 mostró una diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto al T1 y T2. Los datos obtenidos revelan que un incremento de la concentración de la enzima aumenta la cohesividad del pan tipo bollo (Ver Figura 9) en todos los tiempos de almacenamiento estudiados. Los resultados de cohesividad alcanzados en este estudio varían entre 0.68-0.57 para el día 1, de 0.58-0.46 para el día 7, de 0.56-0.43 para el día 15 y de 0.56-0.38 a los 30 días, estos resultados son diferentes y menores a los reportados por Pérez, (2022), el cual obtiene una cohesividad de 0.80-0.65 en un pan marraqueta de 10 días de almacenamiento con una formulación que contiene 0.02% de la enzima maltogénica. Esta diferencia se puede explicar porque la cohesividad está relacionada con la red de gluten, si la formulación cambia en el tipo de harina utilizada, la fuerza del gluten desarrollado será diferente, lo cual sucede en el pan tipo bollo estudiado, pues tiene un porcentaje del 15% de salvadillo, debilitando la red de gluten. (Rodríguez, 2023). No obstante, se obtuvo una disminución del 17.4% en la cohesividad del T3 comparado con la muestra blanco en un tiempo de almacenamiento de 30 días, es decir, con la adición de la enzima se logró mantener la estructura consolidada del pan por un mayor tiempo de almacenamiento (Ver Tabla 7).

Tabla 7.

Resultados de cohesividad al día 1, 7, 15 y 30 en un pan tipo bollo elaborado a diferentes concentraciones de enzima alfa amilasa maltogénica.

		Muestras		
Parámetro	**Día**	**T1**	**T2**	**T3**
Cohesividad	1	0.57 ± 0.05^{a}	0.60 ± 0.06^{a}	0.68 ± 0.12^{b}
	7	0.46 ± 0.02^{a}	0.55 ± 0.05^{b}	0.58 ± 0.04^{b}
	15	0.43 ± 0.07^{a}	0.47 ± 0.12^{a}	0.56 ± 0.04^{b}
	30	0.38 ± 0.03^{a}	0.41 ± 0.03^{a}	0.562 ± 0.03^{b}

Nota: Los resultados son la media ± desviación estándar de diez mediciones. Los superíndices a, b y c representan grupos diferentes.

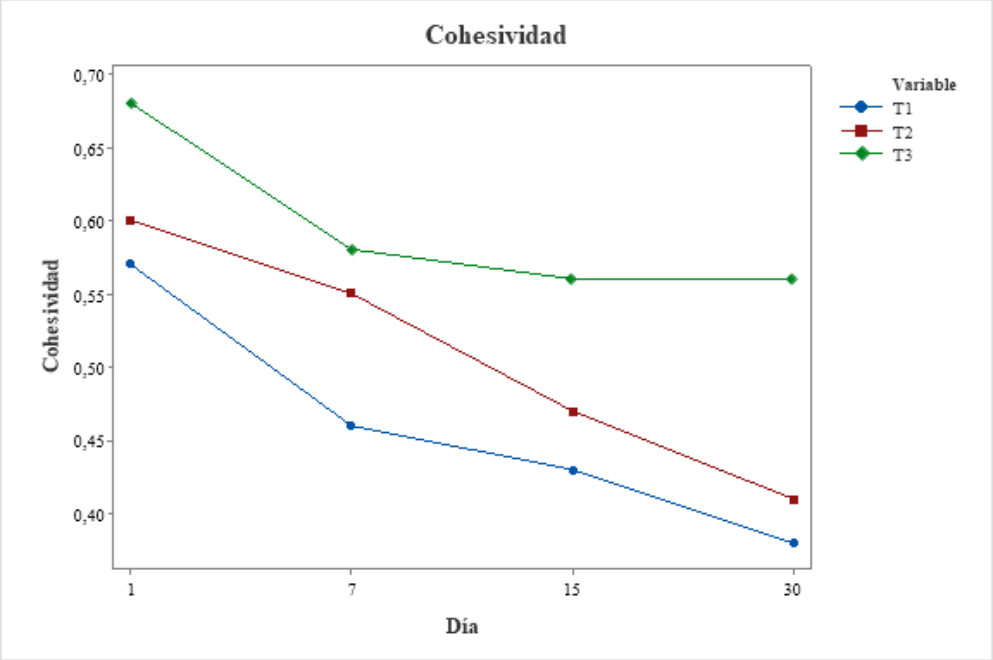


Figura 9. Valores de cohesividad obtenidos a diferentes tiempos de almacenamiento y en formulaciones de diferente concentración de enzima.

Nota: Los tratamientos T1, T2 y T3 representan al Blanco, 0.05 y 1% de enzima.

Los resultados indicados en la Figura 9, revelan que la disminución de cohesividad de la muestra T3 es menor que la muestra T2 y T1, cuyos porcentajes de disminución son 17.4%, 31% y 33.3% respectivamente, es decir, la presencia de la enzima permitió mantener la estructura cohesiva del pan por un mayor tiempo de almacenamiento. Este comportamiento puede ser explicado porque la enzima alfa amilasa maltogénica, aumenta la retención de agua induciendo la unión de los componentes del alimento (Pérez, 2022).

Masticabilidad

Aleixandre et al., (2021); Mu et al., (2019) mencionan que la masticabilidad es la energía necesaria para desmenuzar un alimento sólido hasta que esté adecuado para ser tragado. Los resultados de masticabilidad obtenidos en el presente estudio e indicados en la Tabla 8, muestran una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos T2 y T3 en relación con el T1 al día 1, al día 7 se observó una diferencia significativa entres todos los tratamientos (T1, T2 y T3). Sin embargo, al día 15 no existió una diferencia significativa entre tratamientos. Finalmente, al día 30, los tratamientos T2 y T3 mostraron una diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto al T1. Los resultados de masticabilidad alcanzados en este estudio varían de 51.93-73.78 mJ al día 1, al día 7, 81.99-117.58 mJ, al día 15, 91.28-124.94 mJ

y a los 30 días 98.75-132.42 mJ, haciendo hincapié en que el rango más bajo pertenece al tratamiento T3, estos resultados son diferentes a los reportados por Woo et al., (2020) el cual obtiene una masticabilidad de 0.86-0.81 mJ, en un pan elaborado con la enzima alfa amilasa maltogénica de 7 días de almacenamiento. Esta diferencia de resultados se puede deber a la formulación utilizada en el presente estudio, la cual contiene 15 % de salvadillo, mientras que la formulación utilizada por Woo et. al. (2020) contiene únicamente harina refinada. En general, conforme a los resultados obtenidos, un incremento de la concentración de la enzima disminuye la masticabilidad del pan tipo bollo (Ver Figura 10), es decir, se obtuvo una disminución en la masticabilidad en el T2 del 6.58% y del 36% en el T3 comparado con el T1 en un tiempo de almacenamiento de 30 días.

Tabla 8.

Resultados de masticabilidad al día 1, 7, 15 y 30 en un pan tipo bollo elaborado a diferentes concentraciones de enzima alfa amilasa maltogénica.

		Muestras		
Parámetro	**Día**	**T1**	**T2**	**T3**
Masticabilidad (mJ)	1	73.78 ± 11.89^{a}	58.19 ± 10.86^{b}	51.93 ± 8.56^{b}
	7	117.58 ± 14.76^{a}	99.44 ± 8.48^{b}	81.99 ± 12.56^{c}
	15	124.94 ± 27.35^{a}	102.86 ± 90.16^{a}	91.28 ± 8.30^{a}
	30	132.42 ± 19.60^{a}	112.97 ± 15.67^{b}	98.75 ± 7.844^{b}

Nota: Los resultados son la media± desviación estándar de diez mediciones. Los superíndices a, b y c representan diferencia significativa.

Los resultados de masticabilidad (Figura 10), muestran una disminución positiva de este parámetro con el incremento de la concentración de enzima y el tiempo de almacenamiento. Esta acción se le puede atribuir a la enzima alfa amilasa maltogénica, debido a que hidroliza la amilosa y parte de la amilopectina en maltosa, la misma que al interactuar con las moléculas de agua ayuda a la retención de humedad en el pan (Woo et al., 2020).

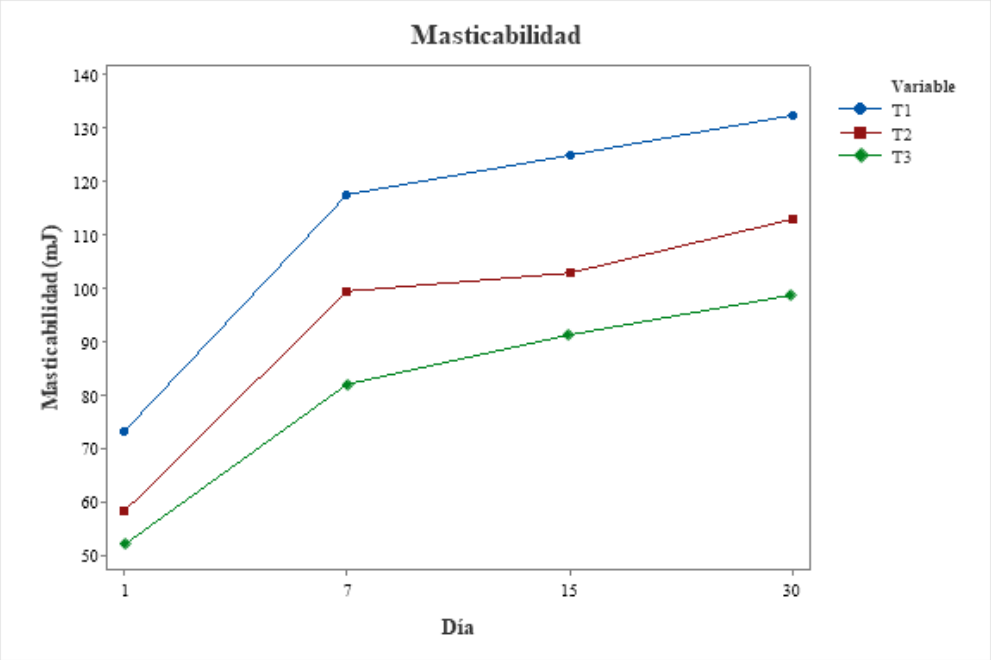


Figura 10. Valores de masticabilidad obtenidos a diferentes tiempos de almacenamiento y en formulaciones de diferente concentración de enzima.

Nota: Los tratamientos T1, T2 y T3 representan al Blanco, 0.05 y 1% de enzima.

3.1.2. Análisis de los parámetros mixográficos de la masa del pan tipo bollo con adición de la enzima alfa-amilasa maltogénica.

Los comportamientos reológicos de los diferentes tratamientos estudiados para elaborar el pan tipo bollo fueron analizados por medio del Mixolab (CHOPIN Technologies), siguiendo el método AACC 54-60.01, lo cual permitió determinar los parámetros mixográficos. (Ver figura 11).

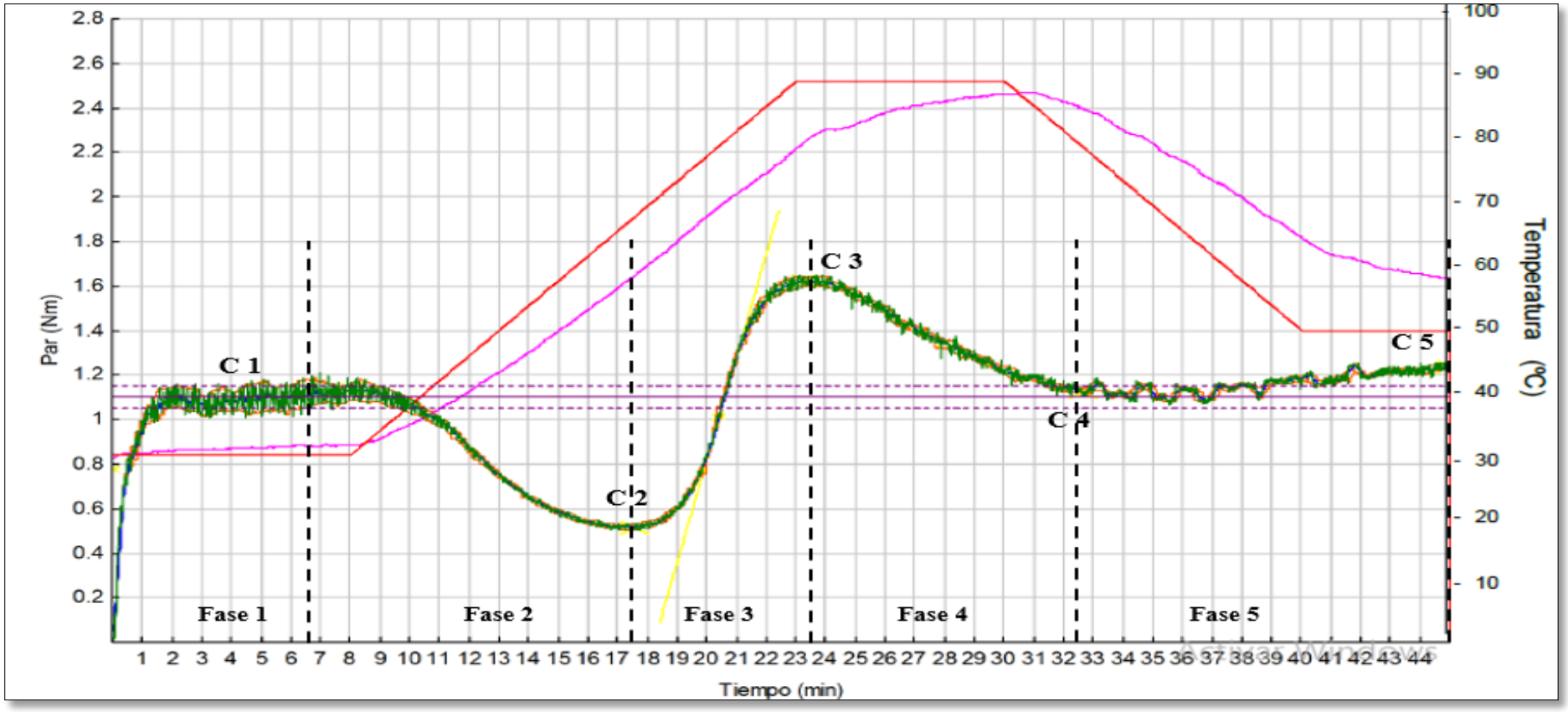


Figura 11. Mixograma del mejor tratamiento T3, (1% de enzima sobre 1 kg de harina).

Nota: El mixograma presenta los parámetros de pasta: C1 - analiza el comportamiento del amasado y el nivel de absorción de agua requerido para alcanzar un torque de 1.1 Nm a una temperatura de mezcla de 30°C, C2 - analiza la disminución de la consistencia de la masa, y debilitamiento de las proteínas durante el periodo de calentamiento, C3 - estudia la gelatinización del almidón, C4 - analiza la estabilidad del gel caliente en la masa y la actividad amilolítica y C5 - analiza la retrogradación del almidón durante el enfriamiento.

Tabla 9.

Resultados del análisis mixográfíco de la mezcla de harina de trigo, salvadillo de trigo y enzima alfa amilasa maltogénica a diferentes concentraciones.

Tratamiento		C	Tiempo	Par (Nm)
T1	Hidratación 65.5±0.71 Humedad 12.45±0.28	C1	7.48±0.85[a]	1.09±0.01^{a}
		C2	17.39±0.01[a]	0.47±0.01^{a}
		C3	23.95±0.67[a]	1.65±0.03^{a}
		C4	31.92±0.28[a]	1.41±0.04^{a}
		C5	45.02±00[a]	1.98±0.08^{a}
T2	Hidratación 65±00 Humedad 12.45±0.03	C1	7.81±0.30[a]	1.12±0.01^{a}
		C2	16.82±0.25[a]	0.50±0.01^{b}
		C3	23.66±0.83[a]	1.67±0.02^{a}
		C4	30.96±0.11[b]	1.40±0.00^{a}
		C5	45.02±00[a]	1.96±0.01^{a}
T3	Hidratación 65±00 Humedad 12.6±00	C1	6.75±1.87[a]	1.13±0.01^{a}
		C2	17.48±0.15[a]	0.52±0.00^{b}
		C3	23.59±0.45[a]	1.63±0.01^{a}
		C4	32.8±0.17[c]	1.15±0.04^{b}
		C5	45.02±00[a]	1.27±0.05^{b}

Nota: Los resultados son la media ± desviación estándar de dos repeticiones. Los superíndices a, b y c representan diferentes grupos.

3.1.2.1. C1 - Índice de absorción de agua

Kahraman et al., (2008) detallan que la absorción de agua, es la cantidad de agua máxima para que la masa tenga la consistencia adecuada, mientras que el tiempo determinado, se refiere a los minutos en el que el par C1 alcanza los 1.1 Nm a una temperatura de 30 °C. El par 1.1 Nm es un valor estándar considerado como adecuado para que la masa alcance una consistencia óptima AACC 54-60-01. Los resultados del par C1 determinados en el presente estudio (Tabla 9) no presentan una diferencia significativa ($p > 0.05$) en los tratamientos T1, T2 y T3. Los resultados de hidratación alcanzados en este estudio son de 65,5% en 7.48 min para el T1, de 65% en 7.81 min para el T2 y de 65% en 6.75 min para el T3. Los valores de los tratamientos son mayores a los reportados por Liu et al., (2023), quienes

obtienen una hidratación de 62,10% en 6,53 min en harinas panaderas con la enzima. Esto podría deberse a que la formulación contiene 15% de salvadillo de trigo lo cual causa una mayor absorción del agua. Además, el porcentaje de hidratación se encuentra influenciado por factores como la calidad de la proteína, propiedades del almidón, el tamaño de partículas de la harina y el almidón tratado enzimáticamente, los cuales afectan a la hidratación de la masa (Hadnađev et al., 2009).

3.1.2.2. C2 - Debilitamiento de las proteínas

Dubat, (2010) detalla que el debilitamiento de las proteínas representa el comportamiento del gluten al calentar la masa y la medida de la concentración proteica a una temperatura de 30-60 °C, así mismo, menciona que, al aumentar la temperatura de la masa, se produce una reducción del par C2. Los resultados del par C2 obtenidos en la presente investigación mostrados en la Tabla 9, indican que existe una diferencia significativa ($p<0.05$) entre los tratamientos T2 y T3 en referencia al T1. Los resultados del C2 son de 0.47 Nm en 17.39 min para T1, de 0.50 Nm en 16.82 min para T2 y 0.52 Nm en 17.48 min para T3. Los valores obtenidos son similares a los mencionados por Lacko-Bartoŝová et al., (2019), quienes detallan que las proteínas de una buena calidad de harina se encuentran en un intervalo de C2 entre 0.5-0.6 Nm, pero son diferentes a estudios realizados por Al-Refia et al., 2018; Saoud et al., (2023) quienes obtuvieron un C2 de entre 0.35-0.41 Nm y de entre 0.41-0.47 Nm respectivamente a una concentración del 0.02% de enzima, esto podría estar relacionado a lo descrito por Banu et al., (2011) quienes detallan que mientras menor es la disminución del par C2, mayor es la cantidad y calidad del gluten presente en la masa. Además, detalla que la variación del tiempo se puede deber a que, en presencia de la enzima, mayor es la capacidad de retención de agua, lo que provoca que la masa mantenga una mayor resistencia y estabilidad durante más tiempo.

3.1.2.3. C3 - Gelatinización del almidón

Banu et al., (2011) detallan que en esta etapa los gránulos de almidón se lixivian y junto con el agua liberada por las proteínas desnaturalizadas térmicamente provocan la gelatinización del almidón, esta fase se da de los 60-90 °C. Los resultados obtenidos en esta investigación se muestran en la Tabla 9, los cuales indican que no existe una diferencia significativa ($p>0.05$) entre los tres tratamientos (T1, T2, y T3). Los valores del C3 en este estudio varían de 1.65 Nm en 23.95 min para el T1, de 1.67 Nm en 23.66 min para el T2 y de 1.63 Nm en 23.59 min para el T3. Estos resultados son similares a los estudiados por Al-Refia et al., 2018; Saoud et al., (2023) los cuales obtuvieron un valor del C3 de 1.67 Nm y 1.6

Nm en el análisis de harina de trigo con adición de esta enzima. Este comportamiento podría estar relacionada con el porcentaje de enzima utilizada, cantidad y calidad del gluten, porcentaje de almidón presente en la harina y la cantidad de enzima empleada, debido a que ayuda a descomponer el almidón lo cual provoca que la viscosidad disminuya (Papoušková et al., 2010).

3.1.2.4. C4 - Actividad amilolítica

Dubat, (2010) define que en esta etapa se analiza la estabilidad del gel de almidón, la cual puede ser más pronunciada cuando la actividad de amilasa es alta, este parámetro se realiza a los 90°C. Los resultados obtenidos en esta investigación se muestran en la Tabla 9, los cuales indican que el tratamiento T3 es significativamente diferente ($p<0.05$) a los tratamientos T1 y T2. Los valores de cada tratamiento son de 1.41 Nm en 31.92 min para el T1, de 1.40 Nm en 30.96 min para el T2 y de 1.15 Nm en 32.8 min para el T3. Estos resultados son diferentes a los obtenidos por Al-Refia et al., (2018) quienes obtuvieron un valor de 1.11 Nm sobre el análisis de las propiedades reológicas de harinas panaderas con la enzima, mientras que Xhabiri et al., (2023) obtuvo valores de 1.14-2.24 Nm en un estudio reológico sobre la mezcla de harina de trigo y salvado de trigo a diferentes concentraciones. Esta variación del par C4 y el tiempo puede estar relacionado a la presencia de la enzima en la masa, la cual al hidrolizar el almidón disminuye la estabilidad y la viscosidad de la masa, lo que provoca que tome mayor tiempo en alcanzar el par C4 (Erukainure et al., 2016). Además, un valor bajo del par C4 corresponde a una actividad de amilasa alta presente en la masa, la cual es fundamental para evitar problemas como la caída de masa o pérdida de volumen durante la cocción (Dapcevic et al., 2011).

3.1.2.5. C5 - Retrogradación del almidón

Dubat, (2010) detalla que esta etapa está relacionada con la retrogradación de las moléculas del almidón, en especial de la amilosa, la cual corresponde al proceso de gelificación del almidón y en esta fase la temperatura disminuye de 90-50°C. Los resultados de la presente investigación se encuentran en la tabla 9, la cual evidencia una diferencia significativa ($p<0.05$), en el tratamiento T3 en relación con el T1 y T2. Los valores de cada tratamiento son de 1.98 Nm para T1, 1.96 Nm para T2 y de 1.27 Nm para T3. Además, se analizó el tiempo que tarda en alcanzar el par C5, en el cual no hubo una diferencia significativa ($p>0.05$), debido a que todos los tratamientos tuvieron el mismo tiempo. Estos valores son diferentes a aquellos reportados en estudios realizados por Al-Refia et al., (2018) y Saoud et al., (2023) quienes obtuvieron valores de 3.31 Nm y 2.76 Nm respectivamente en harinas para panificación con

enzimas alfa-amilasas. Esta variación de valores se le podría atribuir a lo mencionado por Saoud et al., (2023) quienes detallan que el índice de retrogradación depende de las características del almidón y cuanto menor sea el índice, más largo será el tiempo de vida útil del producto, debido a que las moléculas del almidón se encuentran degradadas en fragmentos más pequeños, lo cual reduce su capacidad a recristalizarse.

En resumen, el análisis mixografíco evidenció que la adición de la enzima alfa-amilasa maltogénica no afecto significativamente la capacidad de hidratación (C1), el debilitamiento de las proteínas (C2) y a la gelatinización del almidón (C3) en los tres tratamientos (T1, T2 y T3), sin embargo, si existió una diferencia significativa en la actividad amilolítica (C4) y a la retrogradación del almidón (C5) en el tratamiento T3. Estos resultados evidencian que el porcentaje de enzima (1%) contribuye a una mayor estabilidad de la masa durante la cocción y una recristalización lenta de la amilosa durante su almacenamiento.

3.1.3. Propiedades nutricionales y microbiológicas del mejor tratamiento

3.1.3.1. pH y Acidez

Vega et al., (2015) mencionan que el pH y la acidez definen el sabor, textura, conservación, digestibilidad y la calidad nutricional del pan durante todo el proceso de elaboración. El resultado del pH se observa en la Tabla 10, el cual fue de 5.98, este valor coincide con un estudio realizado por Pérez, (2022) el cual obtuvo un valor entre 5.91-6.01 en un pan marraqueta con la enzima maltogénica en Chile. El dato de pH obtenido cumple con la normativa NTC 1363, (2005), pues establece que el pH de un pan debe oscilar entre 4-6, dependiendo de su formulación. Asimismo, se determinó el porcentaje de acidez expresada en ácido láctico (Tabla 10), el cual fue de 0.04%, este valor es diferente al reportado en estudios realizados por Monasterios, (2023), quien obtuvo un valor de 0.96% en un pan elaborado con harina de trigo y salvado de trigo, sin embargo, el porcentaje de acidez determinado en el pan de la presente investigación si se encuentra dentro de lo establecido por la normativa NTP 206.004, (2011) la cual indica que el porcentaje de ácido láctico debe oscilar entre 0.0-0.7%. La variación del pH y acidez puede estar relacionada a la composición química del trigo, formulación del pan y la presencia de enzimas (Vega et al., 2015).

Tabla 10.

Análisis de la acidez y pH del tratamiento al 1% de la enzima alfa-amilasa maltogénica sobre el pan tipo Bollo.

Análisis	Valor
pH	5.98±0.10
Acidez Titulable (%)	0.04±0.00

Nota: Los parámetros analizados son la acidez y pH. En la tabla se muestra el valor de cada parámetro con su media± desviación estándar.

3.1.3.2. Análisis proximal

Los análisis proximales proporcionan un perfil básico de sus componentes, los cuales son cruciales para evaluar su valor nutricional y la calidad en el desarrollo de productos (Thangaraj, 2016). La Tabla 12 muestra los valores del análisis proximal del mejor tratamiento T3, obtenido mediante análisis de textura y mixografíco, en el cual se destaca el elevado porcentaje de proteína presente en el pan tipo bollo.

Tabla 11.

Análisis proximal del pan tipo Bollo de la mejor formulación de la enzima alfa-amilasa.

Parámetros	Índices
Humedad (%)	27.87±0.13
Proteína (%)	11.57±0.21
Grasa (%)	8.13±0.10
Cenizas (%)	0.90±0.01
Fibra cruda (%)	5.88±0.04
Carbohidratos (%)	45.65±0.51

Nota: Los resultados son la media± desviación estándar de tres mediciones.

3.1.3.3. Humedad

El porcentaje de humedad en los alimentos es muy relevante debido a que influye directamente con la calidad y características de los alimentos. El porcentaje de humedad obtenida se muestra en la Tabla 11, la cual fue de 27.87%, este valor es diferente al estudio realizado por Tinoco, (2009), quien obtuvo una

humedad de 23.06 % en un pan de harina de trigo y salvado de trigo, pero si se encuentra dentro de lo establecido por la norma NTE INEN 2945, (2014), en donde establece que el porcentaje de humedad presente en un pan va de 20-40%. La variación de la humedad puede estar relacionado con el proceso de preparación, cocción y almacenamiento (Pérez, 2022).

3.1.3.4. Proteína

La mezcla de harinas, como es el caso de la harina de trigo enriquecida con salvadillo de trigo, provoca un aumento de la proteína en el producto final. Los resultados de la proteína se muestran en la Tabla 11, la cual fue de 11.57 %, este valor es diferente al estudio realizado por Nidhi et al., (2022) quienes obtuvieron una proteína de 6.9 % en un pan de harina de trigo y salvado de trigo, pero si se encuentra dentro de lo establecido por la norma NTE INEN 2945, (2014), en donde establece que el porcentaje de proteína va desde 7% en adelante. La variación de la proteína podría estar relacionada con la calidad del gluten presente en la harina de trigo y salvado (Magaña et al., 2011).

3.1.3.5. Grasa

Nidhi et al., (2022) detallan que el porcentaje de lípidos presentes en el pan contribuyen a la vida útil, textura, sabor y color del pan. Los resultados de la grasa se muestran en la Tabla 11, la cual fue de 8.13%, este valor es diferente al estudio realizado por Nidhi et al., (2022) quienes obtuvieron una grasa de 4.16 % en un pan de harina de trigo y salvado de trigo. La variación de grasa podría estar relacionado con los ingredientes y a la grasa proveniente del germen del trigo y del salvado de trigo (3-5 %) (Magaña et al., 2011).

3.1.3.6. Ceniza

Se representa como la cantidad de sales minerales como el potasio, calcio, magnesio y sodio presentes en un alimento. Los resultados de ceniza se muestran en la Tabla 11, la cual fue de 0.90 %, este valor es sumamente menor al estudio realizado por Nidhi et al., (2022) quienes obtuvieron un valor de ceniza de 2.6 % en un pan de harina de trigo y salvado de trigo, pero si se encuentra dentro de lo establecido por

la normativa NTP 206.004, (2011) en donde establecen que el porcentaje de ceniza debe contener un máximo de 4 %. Los valores elevados podrían estar relacionados con un valor elevado de sales minerales presentes en la harina y en el salvadillo de trigo (Magaña et al., 2011).

3.1.3.7. Fibra cruda

El contenido de fibra representa la cantidad de carbohidratos que no pueden ser digeribles por el cuerpo humano. Los resultados de fibra cruda se muestran en la Tabla 11, la cual fue de 5.88 %, este valor es menor al reportado por Nidhi et al., (2022) quienes obtuvieron 6.9 % de fibra en un pan de harina de trigo con salvado de trigo. Estos resultados podrían estar relacionados con el procesamiento de la harina, y el salvado, los cuales son los ingredientes principales del aporte de fibra al pan (Díaz, 2013).

3.1.3.8. Carbohidratos

Los carbohidratos son esenciales para el aporte de energía y para facilitar los procesos metabólicos y digestivos. Los resultados de carbohidratos se muestran en la Tabla 11, la cual fue de 45.65 %, este valor es menor al reportado por Nidhi et al., (2022) quienes obtuvieron 74.9 % de carbohidratos en un pan de harina de trigo con salvado de trigo. Estos resultados podrían estar relacionados a la calidad de la harina, calidad y porcentaje del salvado, composición del producto y del proceso de elaboración (Thangaraj, 2016).

3.1.3.9. Análisis de Mohos y levaduras

El análisis microbiológico es fundamental para garantizar un producto inocuo y seguro para el consumo. Si bien se conoce que el pan al momento de salir del horno está libre de bacterias y hongos, este es muy susceptible a re contaminarse al exponerse al aire durante su enfriamiento (Wang et al., 2023). Los resultados del análisis de mohos y levaduras se pueden observar en la Tabla 12.

Tabla 12.

Resultado de los análisis de mohos y levaduras a los 30 días, del tratamiento T3 perteneciente el 1% de la enzima alfa-amilasa maltogénica.

Parámetros analizados	Unidad	Resultado
Recuento de Mohos	UFC/g	Ausencia
Recuento de levaduras	UFC/g	Ausencia

Nota: El análisis de mohos y levaduras se realizó por triplicado al día 30.

En la Tabla 12, se muestra los resultados del recuento de mohos y levaduras en el pan tipo bollo con 2 g de propionato de calcio sobre el kg de harina, lo cual evidencio ausencia de estos microorganismos a los 30 días. Estos valores son diferentes a los reportados por Calderón, (2005) quien obtuvo un valor de 1100 UFC/g a los 14 días incluso utilizando 0.2% de propionato de calcio en un pan integral. Los resultados obtenidos en el presente estudio si cumplen con lo establecido por la normativa (NTC 1363, 2005) en donde indica que se encuentra por debajo del número máximo de unidades formadoras de colonias para mohos y levaduras ($<10^2$ UFC/g), estos resultados podrían estar relacionados con los ingredientes, con la producción, almacenamiento, medio ambiente, empaquetado e inhibidores microbiológicos (Wang et al., 2023).

CAPÍTULO IV. — CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- La evaluación de textura en los panes tipo bollo, elaborados con diferentes concentraciones de la enzima alfa-amilasa maltogénica, reveló que la muestra con adición de 1 g de enzima por kg de harina conserva una mejor estabilidad. Además, reduce el envejecimiento en un 35.84% en comparación con la dureza observada en panes sin enzima tras 30 días de almacenamiento a temperatura ambiente.

- El análisis mixografíco de la mezcla de harina de trigo, salvadillo de trigo y enzima evidenció una diferencia significativa en el C4 y C5 entre los tratamientos, lo cual indicó que la adición del 1% de enzima incrementó la actividad enzimática y redujo la retrogradación de la masa, en comparación con los demás tratamientos. Estos resultados demostraron una mayor estabilidad y volumen de la masa durante la cocción, así como a una retrogradación más lenta de la amilosa durante el enfriamiento.

- La determinación del análisis nutricional y microbiológico del mejor tratamiento T3 reveló que el pan tipo bollo cuenta con un porcentaje de proteína elevada 11.57%, lo cual contribuye de manera positiva en la dieta diaria, mientras los demás parámetros del análisis proximal cumplen con lo establecido en las normativas técnicas de calidad. Además, no existió presencia de mohos y levaduras, lo cual demuestra que el producto es inocuo durante los 30 días de almacenamiento a temperatura ambiente y la cantidad de inhibidor utilizado fue suficiente.

4.2. Recomendaciones

- Se aconseja estudiar el efecto de la enzima alfa-amilasa maltogénica en otro tipo de productos de panadería, y su efectividad a nivel industrial, además se sugiere evaluar su interacción con otros mejoradores enzimáticos para mejorar la calidad de los productos de panificación.

- Se sugiere evaluar el análisis mixografíco con diversos tipos de harinas y la interacción con varios mejoradores enzimáticos de manera que contribuyan a las características organolépticas de una clase de pan o para la creación de nuevas formulaciones.

- Se recomienda llevar a cabo pruebas sensoriales para evaluar parámetros de textura, sabor y apariencia del pan con el propósito de mejorar la formulación y validar la aceptación del producto dentro del mercado.

MATERIAL DE REFERENCIA

Ahuja, J. K., Li, Y., Nguyen, Q., & Pehrsson, P. R. (2022). Characterizing ingredients in commercially packaged baked products sold in the U.S.: An application of IngID. *Journal of Food Composition and Analysis*, *114*, 104830. https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2022.104830

Al-Refia, Y. A., Sharoba A M, & Morsy M K. (2018). Improve the quality of English Cake by using of some Enzymes. In *Egypt Food Biotechnology*.

An, D., Li, Q., Li, E., Obadi, M., Li, C., Li, H., Zhang, J., Du, J., Zhou, X., Li, N., & Xu, B. (2021). Structural basis of wheat starch determines the adhesiveness of cooked noodles by affecting the fine structure of leached starch. *Food Chemistry*, *341*, 128222. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2020.128222

AOAC 920.39.B. (2003). *Total Fat Determination in Pasta according to the Randall method total fat determination in pasta randall method*.

AOAC 930.15. (2000). *Análisis físico-químico proximal de la materia prima y producto terminado*.

AOAC 942.15. (2005). *AOAC-official-method-94215-acidity-titratable-of-fruit-products*.

AOAC 981.12. (2005). *42.1.04 AOAC Official Method 981.12 pH of Acidified Foods*. http://www.foodmate.net

AOAC 985.29. (1986). *AOAC Official Method 985.29 Total Dietary Fiber in Foods Enzymatic-Gravimetric Method*.

Arp, C. G., Correa, M. J., & Ferrero, C. (2020). Kinetic study of staling in breads with high-amylose resistant starch. *Food Hydrocolloids*, *106*, 105879. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2020.105879

Balakireva, A. V., & Zamyatnin, A. A. (2016). Properties of gluten intolerance: Gluten structure, evolution, pathogenicity and detoxification capabilities. *Nutrients*, *8*(10). https://doi.org/10.3390/NU8100644

Banu, I., Stoenescu, G., Ionescu, V., & Aprodu, I. (2011). Estimation of the Baking Quality of Wheat Flours Based on Rheological Parameters of the Mixolab Curve. In *Czech J. Food Sci* (Vol. 29, Issue 1).

Calderón, C. (2005). *Desarrollo de un pan molde alto en fibra usando harina de trigo y avena integral.*

Call, L., Kapeller, M., Grausgruber, H., Reiter, E., Schoenlechner, R., & D'Amico, S. (2020). Effects of species and breeding on wheat protein composition. *Journal of Cereal Science*, *93*, 102974. https://doi.org/10.1016/J.JCS.2020.102974

Caminero, A., & Verdu, E. F. (2019). Metabolism of wheat proteins by intestinal microbes: Implications for wheat related disorders. *Gastroenterología y Hepatología (English Edition)*, *42*(7), 449–457. https://doi.org/10.1016/J.GASTRE.2019.04.001

Carrero, P., & Rodríguez, E. (2021). *Elaboraciones de panadería y bollería*.

Che Hussian, C. H. A., & Leong, W. Y. (2023). Thermostable enzyme research advances: a bibliometric analysis. *Journal of Genetic Engineering & Biotechnology*, *21*(1). https://doi.org/10.1186/S43141-023-00494-W

Chen, Y., Eder, S., Schubert, S., Gorgerat, S., Boschet, E., Baltensperger, L., Boschet, E., Städeli, C., Kuster, S., Fischer, P., & Windhab, E. J. (2021). Influence of Amylase Addition on Bread Quality and Bread Staling. *ACS Food Science and Technology*, *1*(6), 1143–1150. https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.1c00158

Coral, V., & Gallegos, R. (2015). *Determinación proximal de los principales componentes nutricionales de harina de maíz, harina de trigo integral, avena, yuca, zanahoria amarilla, zanahoria blanca y chocho proximal determination of the main nutritional components of cornmeal, whole wheat flour, oak, cassava, yellow carrot, white carrot and andean lupin*. Http://www.fao.org/infoods/infoods/tablas-y-bases-de-datos/ecuador/es/

Dahiya, S., Bajaj, B. K., Kumar, A., Tiwari, S. K., & Singh, B. (2020). A review on biotechnological potential of multifarious enzymes in bread making. *Process Biochemistry*, *99*, 290–306. https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2020.09.002

Dapcevic, T., Pojic, M., Hadnaev, M., & Torbic, A. (2011). The Role of Empirical Rheology in Flour Quality Control. In *Wide Spectra of Quality Control*. InTech. https://doi.org/10.5772/24148

Díaz, Á. (2013). *Efecto de la incorporación de fibras dietéticas en la calidad de panes para celíacos*.

Doreen, G., Pfitzner, C., Haase, N. U., Hüsken, A., Prüfer, H., Greef, J. M., & Rühl, G. (2017). New strategies for a reliable assessment of baking quality of wheat – Rethinking the current indicator protein content. *Journal of Cereal Science*, *77*, 126–134. https://doi.org/10.1016/J.JCS.2017.08.002

Dubat, A. (2010). A new AACC international approved method to measure rheological properties of a dough sample. *Cereal Foods World*, *55*(3), 150–153. https://doi.org/10.1094/CFW-55-3-0150

Dymchenko, A., Geršl, M., & Gregor, T. (2023). Trends in bread waste utilisation. *Trends in Food Science & Technology*, *132*, 93–102. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2023.01.004

Erukainure, O. L., Okafor, J. N. C., Ogunji, A., Ukazu, H., Okafor, E. N., & Eboagwu, I. L. (2016). Bambara–wheat composite flour: rheological behavior of dough and functionality in bread. *Food Science and Nutrition*, *4*(6), 852–857. https://doi.org/10.1002/fsn3.356

Fierens, E., Helsmoortel, L., Joye, I. J., Courtin, C. M., & Delcour, J. A. (2015). Changes in wheat (Triticum aestivum L.) flour pasting characteristics as a result of storage and their underlying mechanisms. *Journal of Cereal Science*, *65*, 81–87. https://doi.org/10.1016/J.JCS.2015.06.009

Guiné, R. P. F., Santos, C., Rocha, C., Marques, C., Rodrigues, C., Manita, F., Sousa, F., Félix, M., Silva, S., & Rodrigues, S. (2020). Whey-Bread, an Improved Food Product: Evaluation of Textural Characteristics. *Journal of Culinary Science and Technology*, *18*(1), 40–53. https://doi.org/10.1080/15428052.2018.1502112

Hadnađev, M., Pojić, M., & Dapčević, T. (2009). Evaluation of the Possibility to Replace Conventional Rheological Wheat Flour Quality Control Instruments with the New Measurement Tool-Mixolab. In *Agriculturae Conspectus Scientifi cus* (Vol. 74, Issue 3). https://www.researchgate.net/publication/41120383

Igrejas, G., & Branlard, G. (2020). The importance of wheat. *Wheat Quality For Improving Processing And Human Health*, 1–7. https://doi.org/10.1007/978-3-030-34163-3_1/COVER

Iqbal, M. J., Shams, N., Fatima, K., Iqbal, M. J., Shams, N., & Fatima, K. (2022). Nutritional Quality of Wheat. *Wheat*. https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.104659

Jha, P. K., Chevallier, S., Cheio, J., Rawson, A., & Le-Bail, A. (2017). Impact of resting time between mixing and shaping on the dough porosity and final cell distribution in sandwich bread. *Journal of Food Engineering*, *194*, 15–23. https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2016.07.016

Kahraman, K., Sakıyan, O., Ozturk, S., Koksel, H., Sumnu, G., & Dubat, A. (2008). Utilization of Mixolab ® to predict the suitability of flours in terms of cake quality. *European Food Research and Technology*, *227*(2), 565–570. https://doi.org/10.1007/s00217-007-0757-y

Kermasha, S., & Eskin, M. N. A. (2021). Enzymes. *Enzymes: Novel Biotechnological Approaches for the Food Industry*, 15–44. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800217-9.00002-2

Kettlewell, P., Byrne, R., & Jeffery, S. (2023). Wheat area expansion into northern higher latitudes and global food security. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *351*, 108499. https://doi.org/10.1016/J.AGEE.2023.108499

Kim, K. H., & Kim, J. Y. (2021). Understanding Wheat Starch Metabolism in Properties, Environmental Stress Condition, and Molecular Approaches for Value-Added Utilization. *Plants*, *10*(11). https://doi.org/10.3390/PLANTS10112282

Kimbell, V. (2017). *The Sourdough School-Octopus_Kyle Books*.

Koga, S., Böcker, U., Wieser, H., Koehler, P., Uhlen, A. K., & Moldestad, A. (2017). Polymerisation of gluten proteins in developing wheat grain as affected by desiccation. *Journal of Cereal Science*, *73*, 122–129. https://doi.org/10.1016/J.JCS.2016.12.003

Lacko-Bartoŝová, M., Konvalina, P., & Lacko-Bartoŝová, L. (2019). Baking quality prediction of spelt wheat based on rheological and mixolab parameters. *Acta Alimentaria*, *48*(2), 213–220. https://doi.org/10.1556/066.2019.0002

Liu, W., Brennan, M., Tu, D., Brennan, C., & Huang, W. (2023). Effect of enzyme compositions on the rheological properties of bread dough enriched in buckwheat flour. *Food Science and Technology*, *43*. https://doi.org/10.5327/fst.114322

Magaña, E., Ramírez Wong, B., Isabel Torres Chávez, P., Isabel Sánchez Machado, D., López Cervantes, J. (2011). *Efecto del contenido de proteína, grasa y levadura en las propiedades viscoelásticas de la masa y la calidad de pan tipo francés* (Vol. 36, Issue 4).

Marti, A., Ulrici, A., Foca, G., Quaglia, L., & Pagani, M. A. (2015). Characterization of common wheat flours (Triticum aestivum L.) through multivariate analysis of conventional rheological parameters and gluten peak test indices. *LWT - Food Science and Technology*, *64*(1), 95–103. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2015.05.029

Monasterios, S. P. (2023). Calidad sensorial de pan con harina integral y salvado de trigo en el municipio de Viacha. *CIBUM SCIENTIA*, *2*(2), 36–54. https://doi.org/10.53287/euji5159vc11x

Moore, T. R. (2016). Breads. In *Reference Module in Food Science*. Elsevier. https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.00116-5

Moro, C. B., Lemos, J. G., Gasperini, A. M., Stefanello, A., Garcia, M. V., & Copetti, M. V. (2022). Efficacy of weak acid preservatives on spoilage fungi of bakery products. *International Journal of Food Microbiology*, *374*, 109723. https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2022.109723

Mu, T. H., Zhang, M., Sun, H. N., & Pérez, I. C. (2019). Sweet potato staple foods. *Sweet Potato: Chemistry, Processing and Nutrition*, 273–302. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813637-9.00010-7

Nidhi, Ms., Kaur, D., Singh, V., & Agrawal, R. (2022). EFFECT OF SUPPLEMENTATION OF WHEAT BRAN ON NUTRITIONAL, FUNCTIONAL AND SENSORY QUALITY OF BREAD. *PLANT ARCHIVES*, 238–245. https://doi.org/10.51470/plantarchives.2022.v22.no1.037

Nivelle, M. A., Remmerie, E., Bosmans, G. M., Vrinten, P., Nakamura, T., & Delcour, J. A. (2019). Amylose and amylopectin functionality during baking and cooling of bread prepared from flour

of wheat containing unusual starches: A temperature-controlled time domain 1H NMR study. *Food Chemistry*, *295*, 110–119. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.049

NTC 1363. (2005). *Norma técnica ntc colombiana 1363*.

NTC 4132. (1997). *Norma Técnica Colombiana para la determinación de mohos y levaduras del pan*.

NTE INEN 520. (2012). *Norma técnica ecuatoriana nte inen 520:2012 harinas de origen vegetal determinacion de la ceniza*.

NTE INEN 2945. (2014). *Norma Técnica ecuatoriana Pan. Requisitos*.

NTP 206.004. (2011). *Norma Sanitária para la Fabricación, Elaboración y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería*. www.digesa.minsa.gob.pe

Onipe, O. O., Ramashia, S. E., & Jideani, A. I. O. (2021). Wheat Bran Modifications for Enhanced Nutrition and Functionality in Selected Food Products. *Molecules*, *26*(13). https://doi.org/10.3390/MOLECULES26133918

Ortolan, F., Urbano, K., Netto, F. M., & Steel, C. J. (2022). Chemical and structural characteristics of proteins of non-vital and vital wheat glutens. *Food Hydrocolloids*, *125*, 107383. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2021.107383

Papoušková, L., Dvořáček, V., Chrpová, J., & Horáková, V. (2010). *Rheological parameters of white flour and whole flour in modern wheat varieties evaluated by mixolab new profiler system*. Https://cabidigitallibrary.org

Parenti, O., Guerrini, L., Mompin, S. B., Toldrà, M., & Zanoni, B. (2021). The determination of bread dough readiness during kneading of wheat flour: A review of the available methods. *Journal of Food Engineering*, *309*, 110692. https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2021.110692

Pérez, M. (2022). *Efecto de la enzima amilasa maltogénica y xilanasa de pan de marrequeta precocido congelado en condiciones de almacenamiento refrigerado*. Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química.

Ponce Ramírez, J. C., Málaga Juárez, J. A., Huamani Huamani, A. L., & Chuqui Diestra, S. R. (2016). *Vista de Optimización de la concentración de la α-amilasa y lactosuero en el mejoramiento de las características tecnológicas, nutricionales y sensoriales del pan francés*. https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/agroindscience/article/view/1275/1203

Quichimbo, S. (2023). *Aprovechamiento de la lámina plateada subproducto del café en el desarrollo de productos de panadería y confitería tradicionales de la provincia de Loja para mejorar la carta en la cafetería Kaweh Coffe Shop, Loja 2023* [Tesis de Tecnología, Instituto Superior Tecnológico Sudamericano].

http://dspace.tecnologicosudamericano.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/755/1/Proyecto%20de%20investigaci%C3%B3n-Samanta%20Camila%20Quichimbo%20Loja.pdf

Rahman, M., Islam, R., Hasan, S., Zzaman, W., Rana, M. R., Ahmed, S., Roy, M., Sayem, A., Matin, A., Raposo, A., Zandonadi, R. P., Botelho, R. B. A., & Sunny, A. R. (2022). A Comprehensive Review on Bio-Preservation of Bread: An Approach to Adopt Wholesome Strategies. *Foods*, *11*(3). https://doi.org/10.3390/FOODS11030319

Ramírez Estrada, J. G., Rodríguez Navarro, G. J., & Ruíz Vásquez, V. G. (2017). *Elaboración de pan artesanal utilizando harina de sorgo blanco (sorghum bicolor l. Moench) y trigo (triticum), adicionado con moringa (m. Oleífera) para favorecer la calidad nutrimental*.

Rigoldi, F., Donini, S., Redaelli, A., Parisini, E., & Gautieri, A. (2018). Review: Engineering of thermostable enzymes for industrial applications. *APL Bioengineering*, *2*(1). https://doi.org/10.1063/1.4997367

Robinson, P. K. (2015). Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays in Biochemistry*, *59*, 1. https://doi.org/10.1042/BSE0590001

Rodriguez, R. (2023). *"Estudio de la aplicación de enzimas maltogénicas a un proceso pregelatinizado para la elaboración de*. Universidad Autónoma del Estado de México.

Romero, G. (2023). *Análisis de los concentrados proteicos de la Hormiga Santandereana (Atta laevigata)*.

Saatloo, N. V., Ebrahiminejad, B., Sadighara, P., Manafi, L., Yazdanfar, N., & Fallahizadeh, S. (2023). Quantification and human health risk assessment of cadmium and lead in wheat flour on the Iranian market by atomic absorption spectrometry. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, *8*, 100438. https://doi.org/10.1016/J.CSCEE.2023.100438

Saini, P., Islam, M., Das, R., Shekhar, S., Sinha, A. S. K., & Prasad, K. (2023). Wheat bran as potential source of dietary fiber: Prospects and challenges. *Journal of Food Composition and Analysis*, *116*, 105030. https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2022.105030

Salvador, E. (2019). *Caracterización de harinas de grano entero a través de mixolab© y su relación con la calidad del pan*. Tesis de maestría, universidad pública de navarra.

Saoud, R., Mohammad, R., & Sara, S. (2023). The effect of laccase enzyme addition to soft Syrian wheat flour or blending with durum flour on the rheological properties of dough. *Journal of Central European Agriculture*, *24*(1), 162–168. https://doi.org/10.5513/JCEA01/24.1.3719

Silano, V., Barat Baviera, J. M., Bolognesi, C., Brüschweiler, B. J., Cocconcelli, P. S., Crebelli, R., Gott, D. M., Grob, K., Lampi, E., Mortensen, A., Rivière, G., Steffensen, I. L., Tlustos, C., van

Loveren, H., Vernis, L., Zorn, H., Glandorf, B., Penninks, A., Smith, A., … Chesson, A. (2018). Safety evaluation of the food enzyme maltogenic amylase from a genetically modified Bacillus subtilis (strain NZYM-SO). *EFSA Journal*, *16*(11), 5478. https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2018.5478

Talens, P. (2017). *Caracterización de las propiedades mecánicas de alimentos mediante análisis de perfil de textura*.

Thangaraj, P. (2016). Proximate composition analysis. In *Progress in Drug Research* (Vol. 71, pp. 21–31). Birkhauser Verlag AG. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26811-8_5

Tinoco, O. (2009). *Desarrollo y evaluación física-química y sensorial de un pan usando salvado de trigo y harina integral*.

Tóth, M., Kaszab, T., & Meretei, A. (2022). Texture profile analysis and sensory evaluation of commercially available gluten-free bread samples. *European Food Research and Technology*, *248*(6), 1447–1455. https://doi.org/10.1007/s00217-021-03944-2

Uçak, İ., & Afreen, M. (2022). Enzymes. *Nutraceutical and Functional Food Components*, 537–571. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85052-0.00006-4

Vega, Ó., De Marco, R., & Risio, C. Di. (2015). *Propiedades físicas y sensoriales de un pan fresco, con la adición de las enzimas lacasa, xilanasa y lipasa physical and sensory properties of fresh bread, with addition of enzymes laccase, xylanase and lipase*. Https://doi.org/10.14508/reia.2015.12.24.87-100

Wang, L., Zhang, Y., Xing, Q., Xu, J., & Li, L. (2023). Quality and microbial diversity of homemade bread packaged in cinnamaldehyde loaded poly(lactic acid)/konjac glucomannan/wheat gluten bilayer film during storage. *Food Chemistry*, *402*, 134259. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2022.134259

Woo, S. H., Shin, Y. J., Jeong, H. M., Kim, J. S., Ko, D. S., Hong, J. S., Choi, H. D., & Shim, J. H. (2020a). Effects of maltogenic amylase from Lactobacillus plantarum on retrogradation of bread. *Journal of Cereal Science*, *93*, 102976. https://doi.org/10.1016/J.JCS.2020.102976

Woo, S. H., Shin, Y. J., Jeong, H. M., Kim, J. S., Ko, D. S., Hong, J. S., Choi, H. D., & Shim, J. H. (2020b). Effects of maltogenic amylase from Lactobacillus plantarum on retrogradation of bread. *Journal of Cereal Science*, *93*, 102976. https://doi.org/10.1016/J.JCS.2020.102976

Xhabiri, G., Hoxha, I., Sana, M., & Hoxha, B. (2023). *Effect of the addition of bran mixtures on dough rheology, correlation between different rheological equipment and bread properties majlinda sana effect of the addition of bran mixtures on dough rheology, correlation between different*

rheological equipment and bread properties. https://www.researchgate.net/publication/370224540

Yailet, E. :, & Carvajal, A. (2016). *Evaluation of elasticity and mechanical properties of bread dough made with replaced flour potato (ipomoea batata)*. *43*. Http://centroazucar.uclv.edu.cu

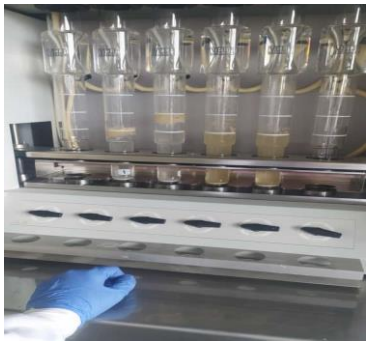
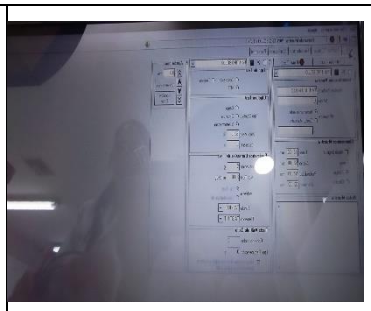
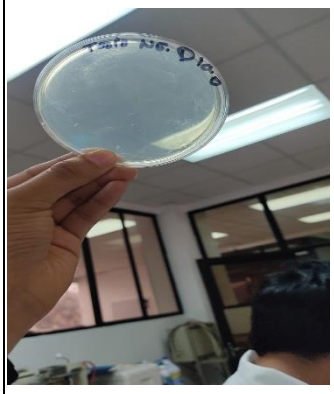
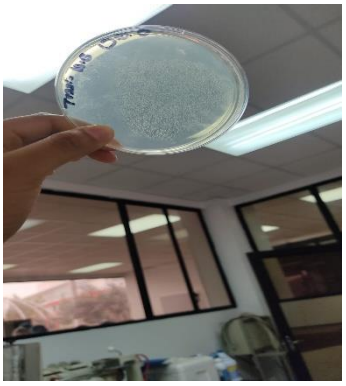
Yazar, G. (2023). Wheat Flour Quality Assessment by Fundamental Non-Linear Rheological Methods: A Critical Review. *Foods*, *12*(18). https://doi.org/10.3390/FOODS12183353

Yeast, A. (2022). *Application of amylases in baking industry*. https://en.angelyeast.com/blog/enzymes/application-of-amylases-in-baking-industry.html

Zhang, J., Luo, D., Xiang, J., Xu, W., Xu, B., Li, P., & Huang, J. (2021). Structural Variations of Wheat Proteins under ultrasound treatment. *Journal of Cereal Science*, *99*, 103219. https://doi.org/10.1016/J.JCS.2021.103219

ANEXOS

<table>
<tr><th colspan="3">Elaboración de pan tipo bollo</th></tr>
<tr><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><th colspan="3">Determinación de ceniza, humedad</th></tr>
<tr><td></td><td></td><td></td></tr>
</table>

Determinación de grasa, fibra y proteína		
		
Determinación de pH y acidez		
		
Determinación de textura		
		
Análisis Microbiológico		
		

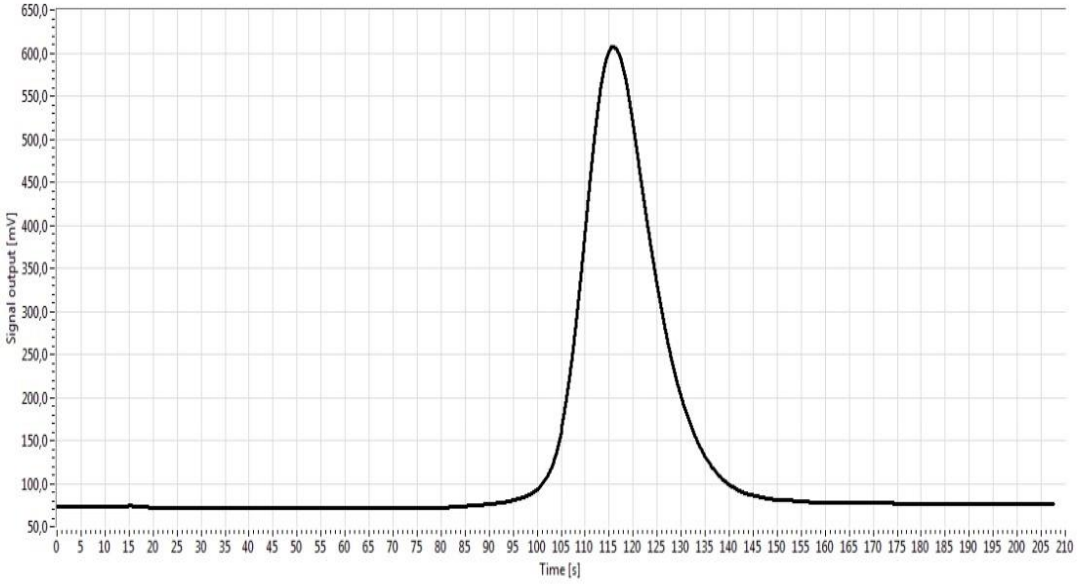
Análisis de proteína

NDA Dumas Nitrogen Analyser

Laboratory information:
Name: CANJE DE DEUDA
Address:
Phone:
E-mail:
Notes:

S/N:
Software version: 3.15.0
Operator Name:

Date [dd/mm/yy]	Time [hh:mm:ss]	Sample Name	Weight [mg]	O2 Flow Rate [ml/min]	O2 Factor [ml/mg]	Analysis Time [s]	Calibration Number	Proteins [% Factor	N Area [mVxs]	N [mg]	N [%]	Proteins [%]
25/04/24	08:27:34	P (R1)	100,3	400,0	1,6	257,6	23	6,25	9822,1	1,8794	1,874	11,711



Working Calibration:

Y = -5,313862E-1 + X * 2,454504E-4 + X^2 * 0,000000E+0 + X^3 * 0,000000E+0

Temperature [°C]:

Combustion furnace: 1030,8
Reduction furnace: 650,5

Flow rate [ml/min]:

MFC1 carrier: 190,0
MFC2 carrier: 219,8

Análisis Mixografícos

Mixolab

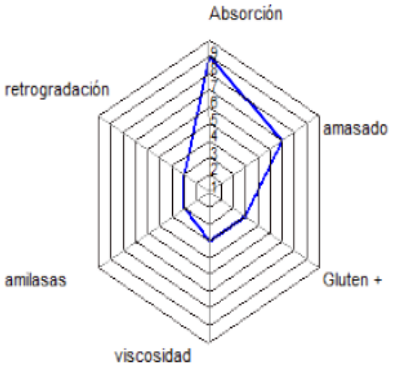
CHOPIN Technologies
20 AV. MARCELLIN BERTHELOT
Z.I. DU VAL DE SEINE
92390 VILLENEUVE LA GARENNE
FRANCE

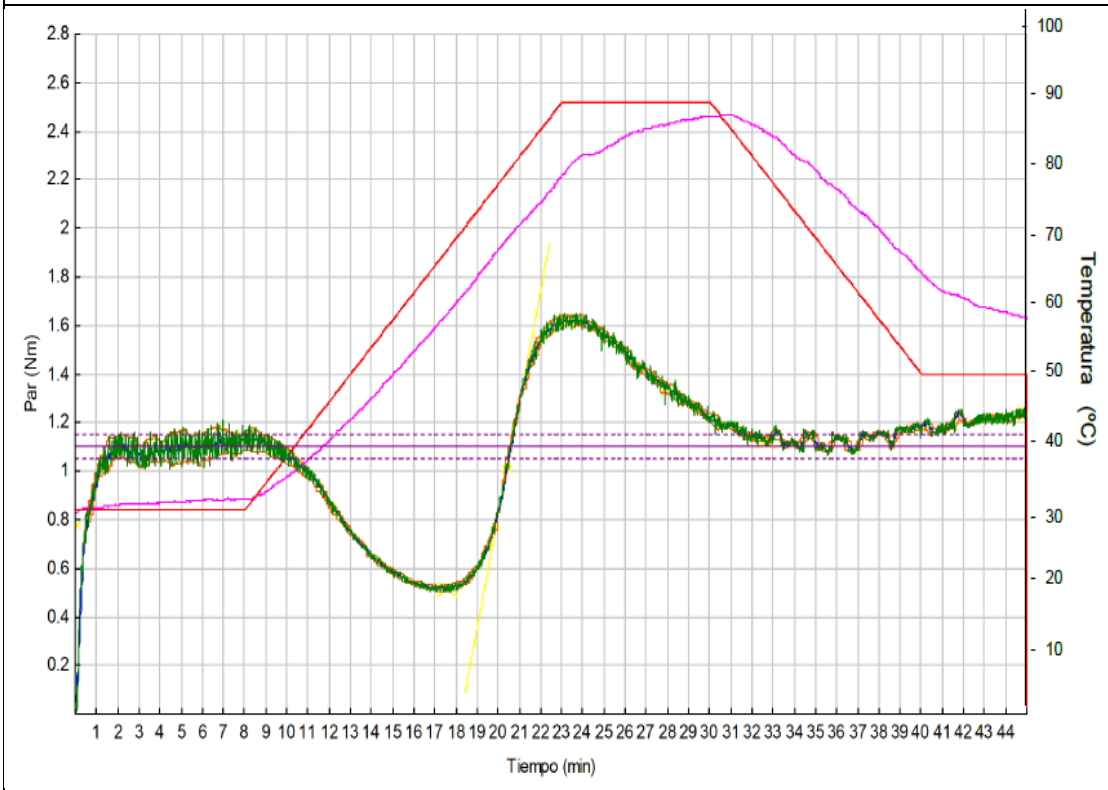
Fecha : 09/04/2024 **Hora :** 16:15
Muestra :
Hydration : 65.6 % base 14% (b14)
Contenido de ++++ %
Indice: 8-63-322

Protocolo : Chopin+
Peso de la masa : 75.0 g
Temperatura del depósito : 30.0 °C
Velocidad de amasado : 80 rpm

α :	-0.122	Nm/min
β :	0.462	Nm/min
γ :	-0.064	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Masa (°C)	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	8.07	1.138	31.7	0.077	9.90
CS	8.00	1.133	31.7		7.38
C2	17.58	0.514	58.8		
C3	23.27	1.624	80.2		
C4	32.68	1.123	85.6		
C5	45.02	1.238	58.2		





Gráfica del analisis de textura

