

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

**Sustitución parcial de harina de trigo por harina de zapallo
(*Cucurbita máxima*) en la elaboración de pan de molde con
la adición de la enzima Glucosa Oxidasa utilizando
metodología de superficie de respuesta**

Sistematización de experiencias prácticas de investigación y/o intervención.

**Bárbara Lizeth Tasiguano Canchignia
María Camila Villarreal Cruz**

Ingeniería en Alimentos

Trabajo de titulación presentado como requisito
para la obtención del título de Ingenieras en Alimentos

Quito, 18 de diciembre de 2017

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
COLEGIO DE CIENCIAS E INGENIERÍAS

HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE TITULACIÓN

Sustitución parcial de harina de trigo por harina de zapallo (*Cucurbita maxima*) en la elaboración de pan de molde con la adición de la enzima Glucosa Oxidasa utilizando metodología de superficie de respuesta

**Bárbara Lizeth Tasiguano Canchignia
María Camila Villarreal Cruz**

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico

María Gabriela Vernaza, Ph.D.

Firma del profesor

Quito, 18 de diciembre de 2017

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante:

Nombres y apellidos:

Bárbara Lizeth Tasiguano Canchignia

Código:

00111479

Cédula de Identidad:

1723304679

Firma del estudiante:

Nombres y apellidos:

María Camila Villarreal Cruz

Código:

00110871

Cédula de Identidad:

1720945615

Lugar y fecha:

Quito, diciembre de 2017

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo en primer lugar a Dios, porque me ha mantenido fuerte frente a las adversidades y siempre me recuerda que “Todo lo puedo en Cristo que me fortalece”

A mis padres, Pablo y Mery, por su esfuerzo, dedicación y amor hacia mí y mis hermanos.

A Carlitos y Nicolás, por ser luces en mi camino.

A mis abuelitos: Enrique, Laura, José y Beatriz, por inculcarme desde pequeña el valor de la familia.

A mis tías: Sary, Anita, Elenita, Tany y Rocío, por estar siempre pendiente de mí.

A mis tíos: William, Mauricio y Vladimir, por estar siempre a mi lado.

A Carlos, por ser un gran compañero durante todos estos años, gracias por tu apoyo, comprensión y cariño.

A mis amigas, porque hicieron de mi vida universitaria un camino más feliz.

A Camila, gracias por aguantar mis estados de ánimo y sobre todo por no dejarme caer nunca.

Bárbara Tasiguano

En primer lugar, quiero dedicar este trabajo a Dios quien me guía a cada paso.

A mi familia por su incondicional apoyo, gracias a ustedes he podido conseguir todos mis logros.

A mis padres quienes son mi ejemplo a seguir, me empujaron siempre a ir más lejos, a no tenerle miedo a lo que pueda venir y siempre darme todo su cariño.

A Galo, gracias por acompañarme durante todo este tiempo, por todo el apoyo y la comprensión que supiste darme.

A mis amigas, gracias por estos cinco años juntas, por todos los buenos momentos que compartimos, todas las risas y trabajo duro.

A mi compañera de fórmula y ahora mi colega, esto lo conseguimos juntas gracias por todo el esfuerzo que le pusiste y por nunca rendirte.

Camila Villarreal

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer de manera muy especial a Gabriela Vernaza, por creer en nosotras y ponernos retos que supimos vencerlos.

A Manuel Chuquimarca por su apoyo incondicional durante toda nuestra carrera universitaria y en especial durante este proceso de titulación.

A Francisco Carvajal por confiar en nosotras.

A Javier Garrido y Lucía Ramírez por ser excelentes profesores.

Bárbara y Camila

RESUMEN

En la actualidad las enfermedades relacionadas a obesidad y diabetes han sido las principales causas de muerte en el Ecuador. El almidón resistente tiene la cualidad de actuar fisiológicamente como una fibra, lo cual contribuye a la salud de los seres humanos. El zapallo (*Cucurbita maxima*) es una hortaliza que se produce en el Ecuador y es de fácil acceso; además tiene un alto valor nutricional. El objetivo de este estudio fue elaborar un pan de molde con mejores características nutricionales, dada la sustitución parcial la harina de trigo por harina de zapallo (13%). Se siguió un diseño central compuesto rotacional (DCCR) 2^2 donde los factores de estudio fueron la adición de Glucosa Oxidasa (GO), para estudiar su efecto en la calidad del pan de molde (0 ppm, 2.93ppm, 10ppm, 17.07ppm y 20 ppm) y la cocción del zapallo (0 min, 2.93min, 10min, 17.07min y 20min) para evaluar la cantidad de almidón resistente que obtiene. Los análisis realizados fueron: caracterización de las masas mediante Mixolab y caracterización de los panes mediante: volumen específico, Aw, pH (masas y panes), humedad, color y almidón resistente. Además, se realizó una evaluación sensorial afectiva con una escala hedónica de 9 puntos, donde se analizaron los siguientes atributos: color, aroma, sabor, textura y apariencia global. Finalmente se llevó a cabo el análisis proximal, se cuantificó: proteína, grasa, humedad, ceniza, carbohidratos totales y sodio. Los resultados fueron analizados estadísticamente, se obtuvieron superficies de respuesta y modelos matemáticos. Se observó que a mayor tiempo de cocción y valores medios de enzima GO influyeron positivamente en el aumento de la estabilidad. C2 incrementó, con valores medios de GO y un mayor tiempo de cocción. C4 fue mayor al tener valores medios de GO y valores mínimos de tiempo de cocción. C5-C4 disminuyó cuando aumentaba el tiempo de cocción y valores medios de GO. El volumen específico aumentó a valores más bajos de GO y un mayor tiempo de cocción. El contenido de almidón resistente aumentó cuando incrementa el tiempo de cocción y a valores medios de GO. En relación al color, el valor de L* disminuye a medida que se tiene menor tiempo de cocción y menor cantidad de enzima. La Evaluación Sensorial indica que no se obtuvo diferencia significativa en ninguno de los parámetros evaluados. En el análisis proximal tampoco existió diferencia significativa entre las formulaciones. Se logró obtener un pan de molde con mayor contenido nutricional aceptado por los consumidores.

Palabras clave: Zapallo (*Cucurbita maxima*), Glucosa Oxidasa, Almidón resistente, Tiempo de cocción, Metodología de superficies de respuesta, DCCR.

ABSTRACT

At present, diseases related to obesity and diabetes have been the main cause of mortality in Ecuador. Resistant starch can act as fiber, which contributes to the well-being of human beings. Pumpkin (*Cucurbita maxima*) is an accessible vegetable with high nutritional value produced in Ecuador. The aim of this study was to elaborate a bread with better nutritional characteristics with the partial substitution of wheat flour by pumpkin flour (13%). A central rotational composite design (DCCR) 2^2 was used, the factors in study were the addition of Glucose Oxidase (GO), to evaluate its effect on bread quality (0 ppm, 2.93 ppm, 10ppm, 17.07ppm and 20 ppm) and boiling time (0 min, 2.93min, 10min, 17.07min and 20min) to evaluate the amount of resistant starch obtained. Additionally, the effect of using glucose oxidase enzyme (GO) in bread quality was studied (0 ppm, 2.93 ppm, 10 ppm, 17.07 ppm y 20 ppm). The analyses made were: characterization of dough with Mixolab methodology and characterization of bread by specific volume, water activity (A_w), pH (dough and bread), moisture, color and resistant starch. Furthermore, an affective sensory analysis was made using a hedonic scale of 9 points, where, attributes such as color, aroma, taste, texture overall acceptability were analyzed. Finally, a proximate analysis was carried out, where measurements of protein, fat, moisture, ash, total carbohydrates and sodium were made. The results were statistically analyzed by the surface response methodology. Mathematical models obtained showed that with higher values in boiling time and middle values of GO enzyme a positive growth in stability was achieved. C2 increased with middle values of GO and greater values of boiling time. C4 was higher with middle values of GO and the lowest values of boiling time. C5-C4 decreased as boiling time increased and GO was in its middle values. Specific volume increased with lower values of GO and higher boiling time. Resistant starch content increased as boiling time increased and middle values of GO were used. In relation to color, L^* value decreased with lower boiling time and lower quantities of enzyme. Sensory Evaluation indicates that there was no significant difference within the parameters evaluated. Proximate analysis showed no significant difference between the treatments as well. A bread with better nutritional content and accepted by consumers was obtained.

Keywords: Pumpkin (*Cucurbita maxima*), Glucose Oxidase, Resistant Starch, Boiling time, Surface Response Methodology, DCCR

TABLA DE CONTENIDO

1. Introducción.....	11
1.1. Zapallo (Cucurbita maxima)	12
1.2. Almidón Resistente	14
1.3. Glucosa Oxidasa.....	15
1.4. Diseño Compuesto Central Rotacional	16
2. METODOLOGÍA.....	16
2.1. Materias Primas	16
2.1.1. Zapallo (Cucurbita maxima).....	16
2.1.2. Harina de Trigo.....	17
2.1.3. Glucosa Oxidasa	17
2.2. Procesamiento	17
2.2.1. Obtención de la Harina de Zapallo.....	17
2.2.2. Elaboración del pan.....	18
2.3. Diseño Experimental.....	19
2.4. Métodos Analíticos	21
2.4.1. Caracterización de las masas.....	21
2.4.2. Caracterización de los panes.....	21
2.4.3. Evaluación sensorial.....	21
2.5. Análisis estadístico	22
3. RESULTADOS Y DISCUSION.....	22
3.1. Caracterización de las masas.....	22
3.1.1. Estabilidad.....	22
3.1.2. C2 (Debilitamiento de las Proteínas).....	23
3.1.3. C4 (Estabilidad del gel caliente formado)	24
3.1.4. C5-C4 (Retrogradación del Almidón)	24
3.2. Caracterización de los panes	29
3.2.1. Volumen Específico	29
3.2.2. Almidón Resistente	29
3.2.3. Color.....	30
3.2.4. Humedad, Actividad de agua (Aw) y pH.....	33
3.3. Función de deseabilidad	34
3.4. Evaluación Sensorial	35
3.5. Análisis Proximal	36
3.5.1. Etiquetas Nutricionales	37
4. Conclusiones	38
5. Bibliografía.....	39
6. Anexos.....	42
Anexo A: Aleatorización de las muestras.....	42
Anexo B: Resultados Mixolab	42
Anexo C: Metodología Humedad.....	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición nutricional del zapallo (Cucurbita máxima) en 100g	13
Tabla 2: Formulaciones para el pan control y con sustitución parcial.....	19
Tabla 3: Factores en estudio.....	20
Tabla 4: Diseño central compuesto rotacional.....	20
Tabla 5: Resultados Análisis de Mixolab	26
Tabla 6: Resultados caracterización de los panes	27
Tabla 7: Resultados del análisis de color	28
Tabla 8: Modelos matemáticos con variables codificadas obtenidos con el DCCR.	31
Tabla 9: Función de deseabilidad para la obtención de tratamientos optimizados	34
Tabla 10: Análisis Proximal.....	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Escala de maduración del Zapallo (Cucurbita máxima)	17
Figura 2: Flujograma del proceso de elaboración de harina de zapallo.....	18
Figura 3: Superficies de respuesta para: a) Estabilidad (min), b) C2(Nm), c) C4(Nm), d) C5- C4 (Nm), e) Volumen Específico (cm ³ /g), f) Almidón Resistente(%), g) L*	32
Figura 4: Resultados Evaluación Sensorial	35
Figura 5: Etiqueta Nutricional de la muestra 916	37
Figura 6: Etiqueta Nutricional de la muestra 212.....	37

1. INTRODUCCIÓN

Una dieta saludable debe contener cantidades adecuadas de lípidos, proteínas y carbohidratos denominados macronutrientes, al igual que vitaminas y minerales que se conocen como micronutrientes (Webb, 2007). En la actualidad, el mundo está atravesando por cambios en los hábitos alimenticios donde, una alimentación rica en fibras se considera como la mejor opción. Lastimosamente en el Ecuador, este cambio aún no ha sido aceptado por toda la sociedad, pues en el año 2011 enfermedades como diabetes, hipertensión y cardiovasculares fueron las principales causas de muerte (INEC, 2014).

En el país, 1 persona de cada 1000 tiene un consumo adecuado de fibra. Como se puede observar, esta cifra es muy baja y en lugar de tener una alimentación nutritiva, se asocia con un alto consumo de carbohidratos refinados y bajo consumo de frutas y verduras. Pero esta no es la única preocupación que existe a nivel nutricional en el país, ya que el 89.4% de la población presenta consumos menores a las recomendaciones diarias de vitamina A y el 70.5% presenta un consumo inadecuado de hierro (UNICEF, 2013).

Existen alimentos que contribuyen a la ingesta de nutrientes como los productos horneados, especialmente el pan ya que es un producto que durante el transcurso de los años ha probado ser la base de la alimentación humana, debido a su bajo costo y facilidad de elaboración, es elegido continuamente como un producto con posibilidades de ser modificado para tener alto valor nutricional y ser llevado a toda la sociedad (Kundu, Bala Grewal, Goyal, Upadhyay, & Prakash, 2012).

Por todo lo establecido anteriormente, el objetivo de este estudio fue realizar un pan de molde elaborado a partir de la sustitución parcial de harina de trigo por harina de zapallo debido a los beneficios que éste puede otorgar al producto final.

1.1.Zapallo (*Cucurbita maxima*)

Pertenece a la familia de las Cucurbitáceas, crece en zonas de climas calurosos con veranos largos y necesita de abundante agua (Rey, 2016). Las especies de la familia *Cucurbitaceae* son de gran importancia económica a nivel mundial, porque están presentes en todos los continentes y se encuentran entre las familias de plantas más importantes que proveen al hombre de productos alimenticios y de fibra de alta calidad (Font, 2013). La especie *Cucurbita maxima* parece tener su origen en América, concretamente en zonas próximas a México, donde se han encontrado rastros con una antigüedad superior a los 10.000 años A.C. El zapallo pertenece a la familia Cucurbitácea y al género *Cucurbita* que está compuesto por 12-14 especies, distribuidas desde Norte América hasta Argentina. Al menos cinco de estas especies fueron domesticadas antes del descubrimiento de América (*Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima*, *Cucurbita pepo*, *Cucurbita ficifolia* y *Cucurbita angyrosperma*) y nueve especies son consideradas como silvestres relacionadas con las formas domésticas (Hablich, 2015).

Tiene propiedades digestivas y nutritivas que aportan al organismo fibra. Contiene vitaminas A, B, C, E y minerales de reacción alcalina que neutralizan los ácidos gástricos. Este producto es beneficioso para el tratamiento contra inflamaciones, paludismo, disentería, hemorragias uterinas, hemorroides, enfermedades inflamatorias y renales. Por su gran contenido en vitamina A se le atribuyen efectos beneficiosos sobre la visión (Castro, 2013).

En el Ecuador la producción de zapallo en el año 2014 fue de 3.290 toneladas, cifra muy inferior a la producción de países como Argentina, Perú y Chile que a nivel de América

Latina son los mayores productores de este cultivo (FAO, 2016). Es necesario aumentar la producción de este bien debido a todos los beneficios que presenta para la salud humana.

Tabla 1: Composición nutricional del zapallo (Cucurbita máxima) en 100g

Composición Proximal	Unidad	Cantidad
Energía	kcal	26
Proteína	g	1
Grasas	g	0.10
Fibra	g	0.5
Azucares totales	g	2.76
Carbohidratos(por diferencia)	g	6.50
Minerales		
Calcio	mg	21
Hierro	mg	0.8
Magnesio	mg	12
Potasio	mg	340
Fosforo	mg	44
Sodio	mg	1
Vitaminas		
Vitamina C	mg	9
Vitamina A	IU	8513
Vitamina E	mg	1.06
Vitamina B1	mg	0.05
Vitamina B2	mg	0.11
Vitamina B3	mg	0.60

(USDA, 2016)

1.2. Almidón Resistente

La porción de almidón que no puede ser digerida por enzimas como amilasa se conoce como almidón resistente. Este tipo de almidones no son digeridos en el intestino delgado y entran al intestino grueso donde se vuelven sustratos disponibles para la fermentación microbiana. El producto de esta fermentación es la producción de ácidos grasos de cadena corta, los cuales tienen beneficios para la salud humana como la reducción de precursores de cáncer de colon, disminuyen la respuesta glicémica y promueven el crecimiento de microorganismos beneficiosos de la flora intestinal. Por otro lado, el almidón resistente también es considerado beneficioso para la salud por sus efectos similares a los que presenta una fibra dietaria. Actualmente existen cinco tipos de almidón resistente (Birt, 2013).

Tipo I: proviene de granos y semillas enteros que impiden el ingreso de agua a la matriz del almidón por lo que no se tienen las condiciones adecuadas para que el almidón se hidrolice. A su vez, la pared celular del material crea una barrera que previene a las enzimas hidrolizar el almidón. El pan hecho con granos enteros de trigo y pastas de trigo *durum* son ejemplos de almidón resistente tipo I (Birt, 2013).

Tipo II: proviene del almidón de papa no cocinada, bananas verdes o maíz con alta cantidad de amilasa. Algunos de estos una vez que son cocinados se vuelven digeribles como resultado de la gelatinización del almidón, para contrarrestar este efecto se debe cocinar bajo su temperatura de gelatinización y se mantiene la estructura cristalina del almidón haciendo que permanezca resistente a la hidrólisis enzimática (Birt, 2013)

Tipo III: se conoce también como almidón retrogradado. Las moléculas de amilosa tienen estructuras lineales que tienden a formar dobles hélices particularmente a temperaturas de refrigeración (4-5°C). La doble hélice que se forma no se acopla a sitios de reconocimiento enzimático de la amilasa por lo tanto no puede ser hidrolizado (Birt, 2013).

Tipo IV: se conoce de esta forma al almidón modificado químicamente mediante adición de derivados químicos que restringen parcialmente la hidrólisis de la molécula de almidón (Birt, 2013).

Tipo V: cuando el almidón interactúa con los lípidos, la amilosa y amilopectina forman complejos helicoidales simples con ácidos grasos y alcoholes grasos. Cuando la cadena de almidón lineal está en una estructura helicoidal, se impide el enlazamiento del almidón y la hidrólisis por la amilasa. Además, el complejo de amilosa-lípido también enreda las moléculas de amilopectina, restringiendo el hinchamiento de los gránulos de almidón y la hidrólisis enzimática (Birt, 2013).

1.3. Glucosa Oxidasa

Las enzimas son proteínas que cumplen con diferentes funciones según la utilidad requerida; como por ejemplo: acelerar o modificar el grado de una reacción química, son específicas (actúan con un único sustrato). Diferentes factores determinan su eficacia, como: temperatura, pH, concentración enzima sustrato, presencia de grupos no proteicos (iones). En la industria de panificación el uso de enzimas ha ido en aumento, debido a su eficacia en diversas características propias del pan (GRANOTEC, 2015).

Una de las enzimas que se está empezando a utilizar en panificación es la glucosa oxidasa que actúa en presencia de oxígeno, donde se cataliza la oxidación de α -D-glucosa a α -D-gluconolactona y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Diferentes investigaciones han determinado que no se conoce completamente el mecanismo por el cual la glucosa oxidasa mejora la calidad del pan; sin embargo, se plantea que el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) producido en la reacción de la enzima puede causar la oxidación de los grupos sulfhidrilo libres de las proteínas del gluten, además participa en la gelación de las pentosas solubles, lo que puede ayudar a modificar las propiedades reológicas en la masa elaborada (Steffolani, 2010).

El tratamiento de harina de trigo con glucosa oxidasa puede ayudar en el entrecruzamiento de la fracción de proteínas solubles mediante enlaces disulfuro. También se ha demostrado que al añadir esta enzima se produce un cambio en la textura de la masa, lo cual afecta su consistencia y aumenta el volumen del pan. Es importante considerar que el efecto de la enzima puede depender de la dosis y de la calidad de la harina utilizada (Castelli, 2002).

1.4. Diseño Compuesto Central Rotacional

Un diseño factorial es aquel que envuelve combinaciones entre los niveles de dos o más factores, donde cada combinación es un tratamiento. Al seleccionar un diseño factorial 2^2 sin repeticiones lo que se obtiene son solamente 4 respuestas que no permiten sacar conclusiones sobre el experimento. Es por esta razón que se deben analizar los puntos centrales del espacio experimental ya que de esta forma se puede obtener información útil sobre el comportamiento de las muestras y la repetitividad del proceso. Se aconseja realizar algunos ensayos sobre los puntos centrales, ya que se obtienen observaciones adicionales para estimar el resultado del proceso evaluado. Adicionalmente, se pueden ajustar las respuestas añadiendo puntos axiales que permiten analizar más parámetros. En el caso de tener un factorial 2^2 se necesitan 4 puntos axiales. Todas estas características hacen que el diseño obtenga su característica rotacional (Rodríguez & Iemma, 2005).

2. METODOLOGÍA

2.1. Materias Primas

2.1.1. Zapallo (*Cucurbita maxima*).

El zapallo se adquirió en el Mercado de Ñaquito. Las características que se tomaron en cuenta para la selección fueron: el peso de aproximadamente 10 Kg y un alto contenido de

almidón, que se obtiene a partir del producto en estado de inmadurez. Para seleccionar esta última característica se siguió la carta de colores de maduración. (**Figura 1**)



(Cantwell & Suslow, 2014)

Figura 1: Escala de maduración del Zapallo (*Cucurbita máxima*)

2.1.2. Harina de Trigo

Adquirida de la empresa Moderna (Paniplus) con las especificaciones que debe cumplir una harina para panificación (11% proteína, 65.5% absorción de agua, 5 min de estabilidad, 36% gluten húmedo, 1% gluten seco).

2.1.3. Glucosa Oxidasa

Proporcionada por GRANOTEC, cumpliendo las especificaciones de una enzima para panificación.

2.2. Procesamiento

2.2.1. Obtención de la Harina de Zapallo.

Para la elaboración de harina de zapallo se tomaron como referencia estudios anteriores (Alava, 2007). Se recibió la materia prima (Zapallo) de aproximadamente 10 Kg, se lavó con agua potable, desinfectó con una solución de hipoclorito de sodio (100 ppm) y enjuagó con agua hasta un remanente de cloro de 5ppm, se cortó y peló con cuchillos de acero inoxidable. Se separó la pulpa y cocinó en diferentes tiempos a 92° C (**Tabla 2**), se rebanó obteniendo

rajas de 3.5 mm, se colocó en bandejas y secó entre 70-80°C por 8h. Finalmente, se trituro el producto seco y pasó por un tamiz N° 40 para la obtención de la harina (**Figura 2**).

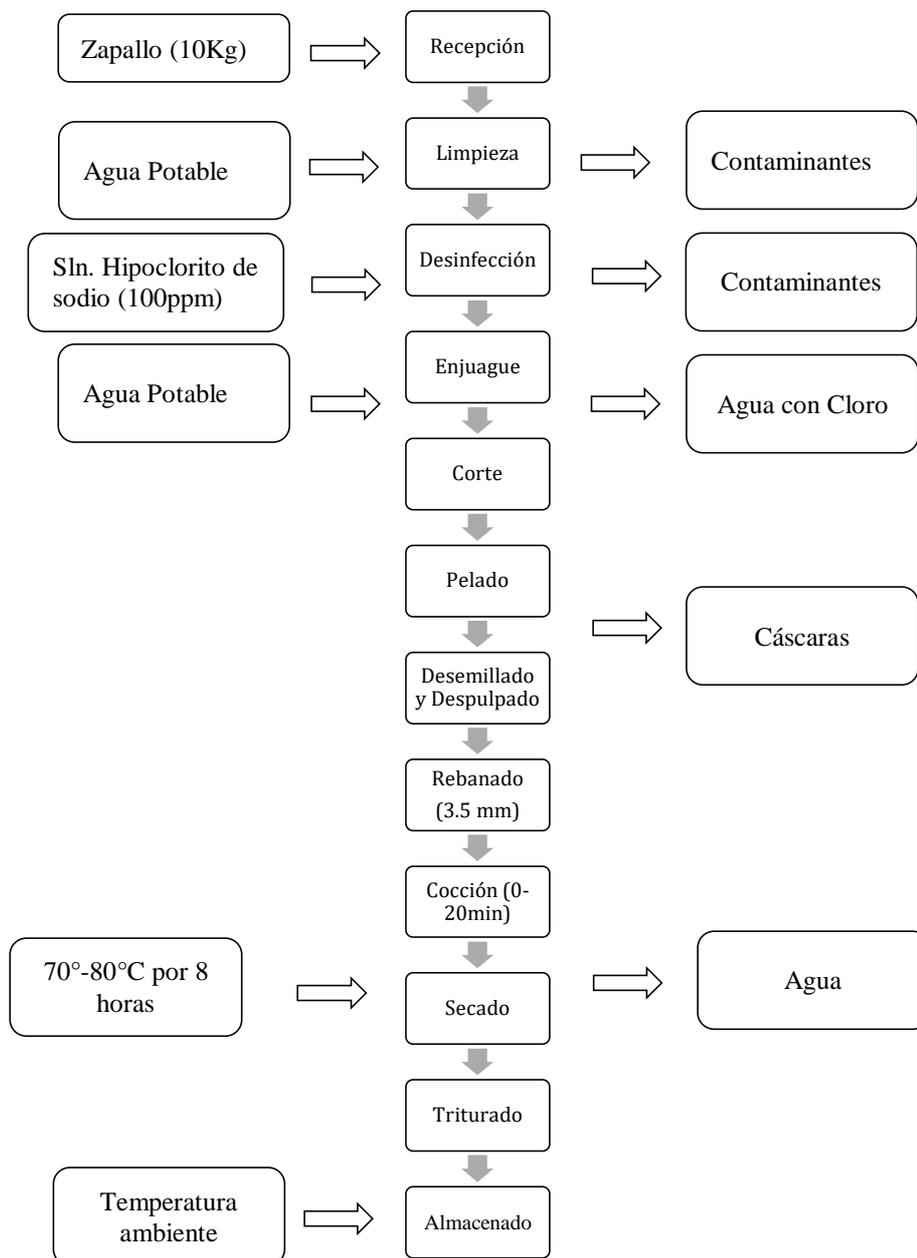


Figura 2: Flujograma del proceso de elaboración de harina de zapallo

2.2.2. Elaboración del pan.

Se utilizó la siguiente formulación base siguiendo la metodología de masa sin tiempo (**Tabla 2**): 100% harina de trigo, 60% agua, 2% sal, 4% levadura, 5% grasa, 5% azúcar, 0.7%

mejorador. Los panes fueron elaborados siguiendo la metodología de masa sin tiempo con una fermentación de 50 minutos en cámara de leudado con condiciones controladas y finalmente los panes fueron horneados por 17 minutos a 170 ° C en horno eléctrico. El porcentaje de sustitución que se utilizó de harina de zapallo fue del 13%, el cual fue determinado tras haber realizado pruebas preliminares y permanecerá constante.

Tabla 2: Formulaciones para el pan control y con sustitución parcial

Pan Control			Pan con sustitución parcial		
Ingredientes	Porcentaje [%]	Cantidad [g]	Ingredientes	Porcentaje [%]	Cantidad [g]
Harina de trigo	100	1000	Harina de trigo	87	870
Agua	61	610	Harina de zapallo	13	130
Sal	2	20	Agua	61	610
Levadura	4	40	Sal	2	20
Grasa	5	50	Levadura	4	40
Azúcar	7	70	Grasa	5	50
Mejorador	0,7	7	Azúcar	7	70
			Mejorador	0,7	7

2.3.Diseño Experimental

La sustitución de la harina de trigo por harina de zapallo en la obtención de pan de molde se realizó siguiendo un diseño central compuesto rotacional (DCCR) 2² con cuatro puntos centrales donde los factores de estudio fueron la adición de glucosa oxidasa de 0 a 20ppm (Steffolani, 2010) y tiempo de cocción de 0 a 20 minutos (Rodríguez-Ambriz, Islas-Hernández, Agama-Acevedo, Tovar, & Bello-Pérez, 2007)(**Tabla 3**). Se realizaron un total de 12 corridas, siendo 4 factoriales (combinaciones entre los niveles -1 y +1), 4 axiales (una variable en el nivel + α y - α , otra en 0 y cuatro centrales (las dos variables en el nivel 0) (**Tabla 4**).

Tabla 3: Factores en estudio

Factores	-α (1.4142)	-1	0	+1	+α (1.4142)
Glucosa Oxidasa (ppm)	0	2.93	10	17.07	20
Tiempo de cocción (min)	0	2.93	10	17.07	20

Tabla 4: Diseño central compuesto rotacional

Tratamiento	Valores codificados de Glucosa Oxidasa	Valores reales de Glucosa Oxidasa (ppm)	Valores codificados de Tiempo de cocción	Valores reales de Tiempos de cocción (min)
	x_1	X_1	x_2	X_2
1	-1	2.93	-1	2.93
2	+1	17.07	-1	2.93
3	-1	2.93	+1	17.07
4	+1	17.07	+1	17.07
5	-1.4142	0	0	10
6	+1.4142	20	0	10
7	0	10	-1.4142	0
8	0	10	+1.4142	20
9	0	10	0	10
10	0	10	0	10
11	0	10	0	10
12	0	10	0	10

2.4.Métodos Analíticos

2.4.1. Caracterización de las masas.

Para analizar el comportamiento de las masas se realizó un Mixolab (método 54-60.01, AACC, 2010) donde se utilizó el protocolo Chopin (Schmiele, Ferrati, Pedrosa, & Chang, 2016). Se colocó una mezcla de harina de trigo, harina de zapallo y glucosa-oxidasa en fundas Ziploc de acuerdo a la **Tabla N°4**. Las muestras fueron aleatorizadas y codificadas (Anexo A). Los parámetros estudiados fueron: absorción de agua(g/100g), tiempo de desarrollo de la masa(min), estabilidad(min), C1(Nm), C2(Nm), C2-C1(Nm), C3(Nm), C3-C2(Nm), C4(Nm), C4-C3(Nm), C5(Nm) y C5-C4(Nm).

2.4.2. Caracterización de los panes.

Se realizaron diferentes análisis a los panes ya elaborados. Se determinó el pH según el método 02-52.01 de la (AACC, 2017) utilizando un potenciómetro, actividad de agua mediante el equipo Hypalm (HP23), humedad por estufa según el método 44 – 15.02 de (AACC, 2017), volumen específico según el método 55 - 50.01 (AACC, 2017). Además se analizó el color con la ayuda de un colorímetro Chroma Meter CR-400 Konica Minolta, usando el espacio rectangular Hunter L,C,h y Almidón Resistente según el método 32 – 40.01 de la AACC (2010). Los análisis físico- químicos realizados fueron los siguientes: Cenizas(Calcinación en mufla, gravimétrico, 923.03) (AOAC, 2012), Proteína Nitrógeno (total) método de Kjehdahl 991.20 (AOAC, 2012), Grasa (Soxhlet. Método 920.39) (AOAC, 2012), Humedad por estufa según el método 44 – 15.02 , Carbohidratos totales (Diferencia) y Sodio (Método de titulación con AgNO₃ (INEN, 2012)

2.4.3. Evaluación sensorial.

Se realizó una prueba afectiva de aceptación con la aplicación de una escala hedónica de 9 puntos a los dos mejores tratamientos obtenidos de la optimización utilizando la función de deseabilidad, siendo 1 = “me disgusta muchísimo” y 9 = “me gusta muchísimo”. Los

atributos medidos fueron color, aroma, sabor, textura y apariencia global. La evaluación fue realizada a 72 jueces no entrenados entre 18 y 55 años en el aula de evaluación sensorial en la Universidad San Francisco de Quito.

2.5. Análisis estadístico

El método que se utilizó para analizar los resultados fue el de superficie de respuesta, con lo cual se calcularon los coeficientes de regresión. Al mismo tiempo se realizó un ANOVA ($P \leq 0.05$) con un R^2 de mínimo 0.70. Por último, se elaboraron modelos matemáticos para las variables en las cuales se obtuvo diferencia significativa utilizando el software Statistica. Se realizó un análisis de deseabilidad para obtener los mejores tratamientos. Para analizar los datos de la evaluación sensorial se realizó una prueba T-student al 5% mediante el software R.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Caracterización de las masas

3.1.1. Estabilidad

De acuerdo al modelo matemático presentado en la **Tabla 8**, la glucosa oxidasa presenta una función cuadrática negativa por lo cual se observa la tendencia a una curvatura en esta variable; es decir, que a medida que se aumenta la cantidad de la enzima, la estabilidad crecerá y luego volverá a disminuir (**Figura 3a**). Por otro lado, en este modelo el tiempo de cocción afecta en mayor proporción a la variable estabilidad ya que es el coeficiente positivo de mayor magnitud en la ecuación que se puede observar en la **Tabla 8**. Por último, se debe mencionar que las interacciones entre ambas variables independientes tienden a aumentar el valor de la estabilidad, esto significa que al aumentar el tiempo de cocción se contrarresta el efecto negativo que puede otorgar la glucosa oxidasa en la estabilidad.

Dentro de la estabilidad de la masa se evalúan los siguientes parámetros: formación de red de gluten, desarrollo de la masa durante el mezclado y la estabilidad de la masa al momento

de aplicarse una fuerza mecánica constante (Schmiele, Ferrari, Pedrosa, & Chang, 2016). Cuando la enzima GO se encuentra en presencia del oxígeno se produce una reacción de oxidación, donde se forma peróxido de hidrógeno, el cual oxida indirectamente los grupos sulfhidrilo del gluten, ocasionando que se transformen en enlaces disulfuro, lo cual fortalece la red de gluten (Steffolani, 2010). Sin embargo, como se explicó, al colocar una mayor cantidad de GO la estabilidad disminuyó considerablemente, debido a que la enzima funciona de mejor manera en masas que contengan harinas con bajo nivel proteico o débiles; la harina utilizada durante el proceso era harina para panificación (harina fuerte), por lo cual no se vio el efecto deseado (Bock, 2015). En cuanto al tiempo de cocción, mientras éste sea mayor, la cantidad de almidón aumenta, lo que favorece a la formación del gluten (Bernabé, 2009), por lo cual, mejora la estabilidad. De esta manera se demuestra lo obtenido en el modelo matemático (**Tabla 8**) y la superficie de respuesta para la variable (**Figura 3a**).

3.1.2. C2 (Debilitamiento de las Proteínas)

El modelo matemático obtenido para C2 fue lineal. En la **Figura 3b** se puede observar la superficie de respuesta obtenida. El tiempo de cocción del zapallo influye en el incremento de valor de C2, debido a que las proteínas presentes en el zapallo se desnaturalizan por los procesos de cocción, secado y molienda, y no pueden contribuir para que la estructura del pan se fortalezca, por lo que las proteínas del gluten deben mantener toda la red del pan. En el momento del horneado las proteínas se debilitan y se espera que ese proceso sea mínimo para que resista el estrés al que es sometida la masa (Sarmiento, 2014).

Se desea que el valor de C2 sea lo más cercano a 0.5 (Nm) para lograr una masa con tenacidad adecuada y un pan con mayor volumen (Pineda, 2013), en el caso del pan con sustitución parcial con harina de zapallo los valores máximos de C2 se encuentran en los puntos centrales (**Figura 3b**). Es importante recalcar que la enzima GO no intervino favorablemente en el valor de C2.

3.1.3. C4 (Estabilidad del gel caliente formado)

El modelo matemático mostrado en la **Tabla 8** sobre el parámetro C4 muestra que la glucosa oxidasa determina la curvatura de la parábola. Como se puede observar en la **Figura 3c** el parámetro C4 llega a su punto más elevado al momento en que la glucosa oxidasa se encuentra entre los valores medios, una vez que pasa de estos valores, el parámetro C4 decae dando un efecto negativo a la estabilidad del gel. Los pentosanos presentes en la harina de trigo tienen la habilidad de gelificar en presencia de radicales libres, por lo que la GO al momento de ser catalizada produce H_2O_2 que facilita la producción de estos radicales y por ende una mayor estabilidad del gel formado (Vemulapalli, Miller, & Hosney, 1998).

Adicionalmente, se puede mencionar que en este caso la variable de tiempo de cocción afecta de manera mínima a la variable dependiente y a medida que éste disminuye favorece al incremento de C4. La estabilidad del gel formado en caliente puede verse afectada por la sustitución parcial de harina de trigo por harina de zapallo (13%) a pesar de que el valor fue constante en todos los tratamientos.

3.1.4. C5-C4 (Retrogradación del Almidón)

El modelo matemático obtenido para C5-C4 fue cuadrático **Tabla 8**, el cual se vio únicamente afectado por el tiempo de cocción. En la **Figura 3d** se puede observar la superficie de respuesta obtenida. La retrogradación del almidón consiste en la reasociación de las cadenas de amilosa y amilopectina, eliminando agua, disminuyendo la vida útil del pan y aumentando su dureza, por lo que se desea valores bajos de (C5-C4). A medida que el tiempo de cocción aumenta se forma una mayor cantidad de almidón resistente tipo III, el cual ayuda a retener agua, disminuyendo la retrogradación del almidón (Loor, 2008). Una alta retrogradación del

almidón tiene un efecto negativo en la calidad de ciertos productos alimenticios, en el pan ocurre un fenómeno conocido como envejecimiento el cual produce dureza y menor tiempo de vida útil, lo cual repercute en la aceptación del consumidor y en la industria de panificación (Fu, Chen, Luo, Liu, & Liu, 2015). Los valores mínimos de C5-C4 corresponden a los puntos extremos en la **Figura 3d**.

Tabla 5: Resultados Análisis de Mixolab

Tratamiento	Absorción de Agua (g/100 g)	Tiempo de desarrollo de la masa (min)	Estabilidad (min)	C1 (Nm)	C2 (Nm)	C2-C1 (Nm)	C3 (Nm)	C3-C2 (Nm)	C4 (Nm)	C4-C3 (Nm)	C5 (Nm)	C5-C4 (Nm)
T1	75±0.000	5.120±0.071	6.550±0.000	1.097±0.001	0.306±0.001	-0.791±0.002	1.247±0.004	0.941±0.006	0.945±0.034	-0.302±0.030	1.374±0.035	0.429±0.001
T2	75±0.000	5.010±0.226	6.745±0.247	1.072±0.028	0.296±0.015	-0.776±0.013	1.228±0.003	0.933±0.012	0.919±0.009	-0.310±0.006	1.354±0.025	0.436±0.016
T3	76.1±0.000	4.825±0.177	6.950±0.311	1.135±0.011	0.334±0.005	-0.801±0.006	1.173±0.010	0.840±0.005	0.829±0.011	-0.344±0.001	1.208±0.011	0.379±0.001
T4	74.8±0.000	5.300±0.424	7.725±0.035	1.139±0.006	0.349±0.010	-0.790±0.004	1.220±0.006	0.871±0.004	0.898±0.017	-0.322±0.011	1.288±0.001	0.390±0.018
T5	72.3±0.000	5.000±0.071	7.200±0.311	1.099±0.016	0.309±0.003	-0.790±0.013	1.238±0.006	0.929±0.009	0.944±0.010	-0.294±0.016	1.372±0.012	0.428±0.022
T6	72.2±0.000	5.035±0.092	6.510±0.269	1.106±0.006	0.294±0.000	-0.812±0.006	1.209±0.002	0.915±0.002	0.894±0.008	-0.315±0.011	1.300±0.014	0.406±0.006
T7	68±0.000	5.195±0.106	6.650±0.141	1.086±0.022	0.272±0.006	-0.814±0.016	1.298±0.018	1.026±0.013	1.008±0.008	-0.290±0.010	1.406±0.006	0.398±0.015
T8	73±0.000	5.475±0.346	7.835±0.163	1.109±0.010	0.342±0.002	-0.768±0.012	1.287±0.008	0.945±0.006	0.968±0.012	-0.319±0.020	1.343±0.011	0.375±0.001
T9	73.5±0.000	4.960±0.127	6.225±0.035	1.099±0.006	0.284±0.001	-0.815±0.006	1.188±0.004	0.904±0.003	0.861±0.006	-0.327±0.009	1.267±0.005	0.406±0.001
T10	72.3±0.000	5.190±0.198	7.310±0.269	1.089±0.008	0.307±0.001	-0.782±0.009	1.230±0.001	0.923±0.001	0.935±0.009	-0.295±0.008	1.359±0.035	0.425±0.026
T11	71.7±0.495	4.895±0.106	7.185±0.021	1.131±0.022	0.316±0.011	-0.815±0.011	1.269±0.018	0.954±0.008	0.987±0.021	-0.282±0.003	1.406±0.011	0.419±0.010
T12	70.9±0.000	5.320±0.071	7.150±0.255	1.111±0.004	0.310±0.008	-0.801±0.005	1.265±0.004	0.955±0.004	0.980±0.005	-0.286±0.001	1.403±0.007	0.424±0.002

Datos para $\bar{x} \pm$ desviación estándar. Mediciones realizadas por duplicado

Tabla 6: Resultados caracterización de los panes

Tratamientos	AR (%)	VE[cm ³ /g]	Aw	pH	pH masas		Humedad (%)
					A.F	D.F	
T1	1.086 ± 0.071	2.858 ± 0.094	0.929 ± 0.003	5.363 ± 0.015	5.507 ± 0.012	5.367 ± 0.021	40.28 ± 0.013
T2	2.868 ± 0.022	2.79 ± 0.103	0.936 ± 0.004	5.43 ± 0.030	5.547 ± 0.012	5.383 ± 0.015	41.59 ± 0.005
T3	1.191 ± 0.174	3.046 ± 0.029	0.937 ± 0.010	5.417 ± 0.006	5.627 ± 0.055	5.297 ± 0.06	38.63 ± 0.008
T4	2.881 ± 0.400	2.934 ± 0.146	0.935 ± 0.001	5.523 ± 0.006	5.52 ± 0.000	5.233 ± 0.047	41.13 ± 0.008
T5	2.006 ± 0.436	2.813 ± 0.045	0.931 ± 0.001	5.487 ± 0.006	5.64 ± 0.026	5.36 ± 0.010	40.48 ± 0.002
T6	1.932 ± 0.018	2.812 ± 0.020	0.93 ± 0.001	5.457 ± 0.040	5.631 ± 0.036	5.36 ± 0.010	39.7 ± 0.009
T7	1.029 ± 0.101	2.897 ± 0.109	0.927 ± 0.001	5.473 ± 0.015	5.58 ± 0.085	5.317 ± 0.032	40.42 ± 0.001
T8	2.696 ± 0.157	2.949 ± 0.022	0.933 ± 0.003	5.507 ± 0.015	5.613 ± 0.021	5.18 ± 0.026	39.36 ± 0.004
T9	2.774 ± 0.202	2.809 ± 0.020	0.944 ± 0.002	5.523 ± 0.025	5.66 ± 0.010	5.48 ± 0.010	41.07 ± 0.011
T10	3.057 ± 0.160	2.805 ± 0.110	0.931 ± 0.002	5.473 ± 0.025	5.593 ± 0.025	5.423 ± 0.015	40.35 ± 0.001
T11	2.873 ± 0.026	3.089 ± 0.043	0.936 ± 0.003	5.47 ± 0.020	5.547 ± 0.025	5.183 ± 0.021	38.94 ± 0.000
T12	2.783 ± 0.241	2.764 ± 0.161	0.935 ± 0.001	5.507 ± 0.006	5.51 ± 0.026	5.23 ± 0.020	38.94 ± 0.001
Control		4.043 ± 0.139	0.947 ± 0.003	5.67 ± 0.010	5.573 ± 0.021	5.153 ± 0.035	38.98 ± 0.003

Datos para $\bar{x} \pm$ desviación estándar. Mediciones realizadas por triplicado

Tabla 7: Resultados del análisis de color

Tratamientos	L*	a*	b*	Hue	Croma
T1	52.630± 0.859	6.963 ± 0.170	23.618 ± 0.379	87.619±0.039	24.623±0.371
T2	51.782 ± 1.355	6.969 ± 0.140	23.529 ± 2.040	87.597±0.179	24.545±1.977
T3	55.050± 1.395	4.714 ± 0.305	27.164 ± 0.646	87.935±0.050	27.572±0.628
T4	57.955 ± 0.884	4.517 ± 0.145	26.933 ± 0.791	87.917±0.059	27.310±0.779
T5	55.466 ± 0.682	6.678 ± 0.168	25.552 ± 0.361	87.803±0.032	26.411±0.374
T6	55.123 ± 0.992	6.713 ± 0.157	25.497 ± 0.606	87.797±0.053	26.367±0.607
T7	53.421 ± 0.922	7.590 ± 0.201	24.695 ± 0.793	87.723±0.075	25.835±0.805
T8	59.069 ± 0.982	4.679 ± 0.140	31.850± 8.749	88.174±0.290	32.205±8.697
T9	57.295 ± 0.845	5.620 ± 0.173	26.197 ± 0.439	87.858±0.036	26.794±0.446
T10	55.770 ± 0.857	6.184 ± 0.215	25.34 ± 0.763	87.783±0.066	26.085±0.779
T11	55.004 ± 0.781	6.132 ± 0.163	24.898 ± 0.497	87.744±0.046	25.642±0.505
T12	55.588 ± 0.829	6.218 ± 0.206	24.734 ± 0.357	87.729±0.033	25.504±0.371
Control	67.351 ± 8.492	-1.350 ± 0.057	14.563 ± 0.435	86.112±0.117	14.626±0.431

Datos para $\bar{x} \pm$ desviación estándar. Mediciones realizadas por duplicado

3.2. Caracterización de los panes

3.2.1. Volumen Específico

En este caso, el modelo matemático que se presenta en la **Tabla 8**, muestra que el tiempo de cocción es la variable que tiene un mayor efecto sobre el volumen específico debido a su característica de ecuación cuadrática. Como se muestra en la **Figura 3e** los extremos del paraboloides tuvieron un mayor volumen específico, es decir, al mayor tiempo de cocción y al menor. Por otro lado, se vio un efecto negativo de la enzima, a mayor cantidad de GO hubo un ligero decremento de volumen específico, debido a que el efecto de la enzima depende de la cantidad utilizada y el tipo de harina, al adicionarla a harinas de buena calidad se produce una masa tenaz y poco extensible, lo que resulta en un pan con bajo volumen (Steffolani, 2010).

Se puede evidenciar el efecto del tiempo de cocción del zapallo porque a medida que transcurre la cocción, el almidón se gelatiniza, lo que aumenta la absorción de agua y es más fácil que sea degradado por enzimas, por lo cual las levaduras tienen más sustratos para la producción de CO₂, con lo cual se incrementa el volumen del pan en el proceso de fermentación (Rosell, 2011). Se desea maximizar el volumen específico debido a las expectativas del consumidor sobre el pan, por lo que se debe tomar en cuenta los valores adecuados tanto de glucosa oxidasa como del tiempo de cocción ya que su interacción produce el efecto esperado en el volumen específico del producto.

3.2.2. Almidón Resistente

El modelo matemático obtenido del almidón resistente fue cuadrático. En la **Figura 3f** se puede observar la superficie de respuesta obtenida y el efecto positivo tanto de la GO como del tiempo de cocción. El almidón resistente tipo III se forma a partir del proceso de retrogradación del almidón, donde se lo expone a bajas temperaturas después de la etapa de

gelatinización, lo cual genera que los gránulos de almidón se hidraten hasta perder su estructura por completo, posteriormente estas estructuras se vuelven a asociar (cadenas de amilosa y amilopectina), obteniendo almidón resistente Tipo III (Loor, 2008). Los valores medios presentan el mayor contenido de almidón resistente y los extremos el menor.

Almidón resistente se considera a la parte del almidón que no puede ser digerida por enzimas como la amilasa, este tipo de almidones no son digeridos en el intestino delgado y entran al intestino grueso donde se vuelven sustratos disponibles para la fermentación microbiana. El producto de esta fermentación es la producción de ácidos grasos de cadena corta, los cuales tienen beneficios para la salud humana como la reducción de precursores de cáncer de colon. Por otro lado, el almidón resistente también es considerado beneficioso para la salud por sus efectos similares a los que presenta una fibra dietaria (Birt, 2013). Existen 5 tipos de almidón resistente, en este caso el almidón tipo III es el que interesa, conocido también como almidón retrogradado que tiene estructuras lineales que tienden a formar hélices dobles a bajas temperaturas, dicha doble hélice no se acopla al sitio de reconocimiento enzimático de la amilasa, por lo que no puede ser hidrolizada (Noor, Ho, Komathi, & Bhat, 2011).

El efecto de la GO se debe al H_2O_2 , que permite que el gránulo de almidón este mejor hidratado, lo cual genera una gelatinización adecuada y por ende una mejor retrogradación, lo cual resulta en una mayor cantidad de almidón resistente formado (Bock, 2015). En la **Figura 3f** se observa que los valores más altos de almidón resistente corresponden a los puntos centrales.

3.2.3. Color

El modelo matemático que se obtuvo para el color (luminosidad) fue cuadrático. En la **Figura 3g** se puede observar la superficie de respuesta obtenida. A medida que el tiempo de cocción del zapallo aumenta, el valor de L^* también lo hace, por lo que para el Tratamiento 8, que tiene 20 min de cocción, dicho valor corresponde a (59.069 ± 0.982) , el más alto entre

todas las formulaciones. El zapallo tiene un alto contenido de carotenoides (β -caroteno, α -caroteno y luteína), que son pigmentos que se mantienen estables a temperatura ambiente; sin embargo, al someterlos a un proceso de calentamiento se vuelven lábiles y se degradan más rápido (Meléndez, Vicario, & Heredia, 2004). Por lo tanto, el valor de L^* es mayor, porque al someter al zapallo a un proceso para obtener harina, pierde gran parte de los carotenoides presentes, por lo que el pan pierde el color amarillento característico. De igual forma si el tiempo de cocción disminuye el valor de L^* es menor. El efecto de la glucosa oxidasa es también negativo, el Tratamiento 6 contiene 20 ppm y el valor de L^* corresponde a 55.123 ± 0.992 , el cual también es alto, esta degradación ocurre por la reacción de oxidación de los carotenoides, donde se forman apocarotenoides (compuestos de bajo peso molecular), los cuales pierden su color y propiedades funcionales para la salud (Meléndez, Vicario, & Heredia, 2004). De igual forma si la cantidad de enzima glucosa oxidasa disminuye el valor de L^* es menor.

Tabla 8: Modelos matemáticos con variables codificadas obtenidos con el DCCR.

VARIABLE DEPENDIENTE	MODELO MATEMÁTICO	R² AJUS.
Estabilidad	$= 7.21 + 0.24x_1 - 0.19x_1^2 + 0.38x_2 + 0.15x_1x_2$	0.9843
C2	$= -0.31 + 0.02x_2 + 0.01x_1x_2$	0.8893
C4	$= 0.96 - 0.03x_1 - 0.03x_1^2 - 0.03x_2$	0.703
C5 – C4	$= 0.42 - 0.00x_1 - 0.02x_2 - 0.02x_2^2$	0.8139
Volumen Específico	$= 2.80 - 0.03x_1 + 0.04x_2 + 0.07x_2^2 - 0.03x_1x_2$	0.7801
Almidón Resistente	$= 2.96 + 0.45x_1 - 0.48x_1^2 + 0.31x_2 - 0.53x_2^2$	0.7076
L*	$= 55.30 - 1.22x_1^2 - 0.53x_2 + 0.49x_2^2 - 0.99x_1x_2$	0.7731

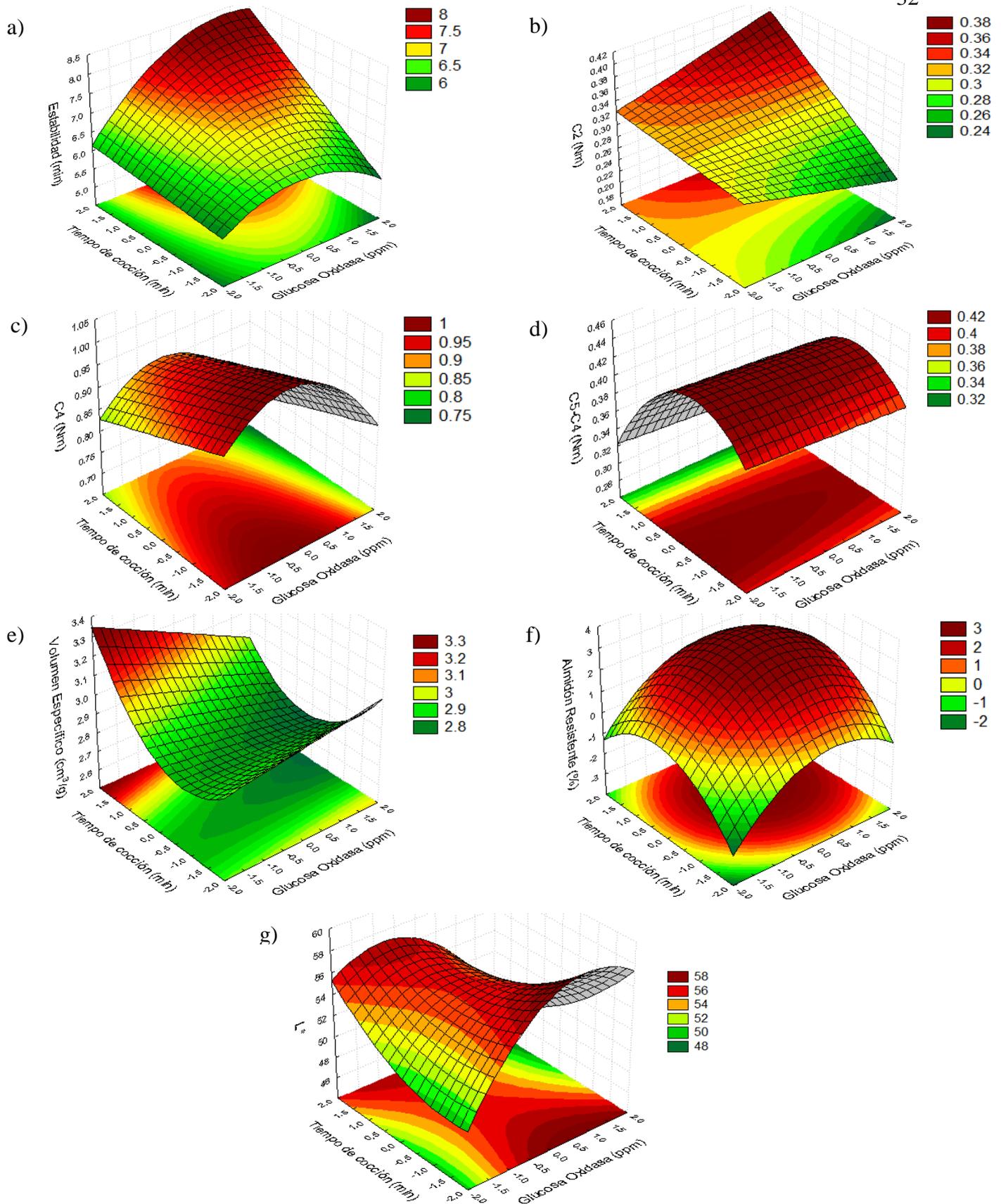


Figura 3: Superficies de respuesta para: a) Estabilidad (min), b) C2(Nm), c) C4(Nm), d) C5-C4 (Nm), e) Volumen Específico (cm³/g), f) Almidón Resistente(%), g) L*

3.2.4. Humedad, Actividad de agua (Aw) y pH

Los datos obtenidos de la humedad del pan no fueron significativos, es decir, no existió diferencia significativa entre ellos. Según estudios realizados, en una sustitución parcial del 90-10, no va a existir diferencia significativa con el pan control, por lo que los datos se mantienen en un mismo rango (Wongsagonsup, Kittisuban, Yaowalak, & Supphantharika, 2015). La sustitución fue constante para todas las formulaciones (13%), por lo que no influyó en la humedad, tampoco los factores de glucosa oxidasa y tiempo de cocción afectaron. La actividad de agua presentó el mismo caso que la humedad, donde los datos no tuvieron diferencia significativa y se mantuvieron en el mismo rango. Según la norma INEN 2945 sobre los requisitos del pan, la humedad debe estar en un rango de 20% a 40%, lo cual si se cumple en el pan con sustitución con harina de zapallo (INEN, Normalizacion Ecuatoriana, 2015) y la p, lo cual también se cumple en este estudio (Badui, 2013) . Estos factores son determinantes en la conservación de productos de panificación porque influyen en el crecimiento microbiano y velocidad de deterioro.

Los datos de pH no tuvieron diferencia significativa. En estudios realizados una sustitución del 90-10 con harina de zapallo si presentó un cambio en el pH, sin embargo, esta variable depende de las harinas utilizadas e ingredientes frescos (Różyło, y otros, 2014). La harina utilizada era de buena calidad, al igual que los ingredientes frescos, por lo que el pH del pan, masa antes de fermentar y masa después de fermentar se mantuvo en un mismo rango. El pH óptimo de fermentación debe estar entre 5.2 y 5.5 ya que si los valores están por fuera de este rango puede darle paso a un aumento excesivo de fuerza en la masa (exceso) o se puede dar paso a que actúen otro tipo de microorganismos que podrían contaminar la masa (Flecha, 2015). Por otro lado, el pH es indispensable para la mayoría de reacciones durante el proceso de panificación y también para el color (Reacción de Maillard).

3.3.Función de deseabilidad

Los parámetros utilizados para obtener la función de deseabilidad se muestran en la **Tabla 9**. A cada variable se le asignó un objetivo e importancia de acuerdo a lo esperado para la optimización de los tratamientos finales. Las importancias fueron asignadas entre 1-5 siendo 1 menos importante y 5 más importante. Para la primera formulación se maximizaron las siguientes variables: estabilidad, C2, C4, volumen específico y almidón resistente, se minimizó la variable C5-C4 y se mantuvieron en rango la glucosa oxidasa, tiempo de cocción y L*. Para la segunda formulación se maximizaron solamente las variables de volumen específico y almidón resistente, las otras variables se mantuvieron en rango. Como resultado los tratamientos óptimos fueron: 916 (8.8754 ppm de glucosa oxidasa y 19.1918 min de cocción) y 212 (11.4069 ppm de glucosa oxidasa y 20 min de cocción). La deseabilidad para 212 y 916 fueron 0.82 y 0.71 respectivamente.

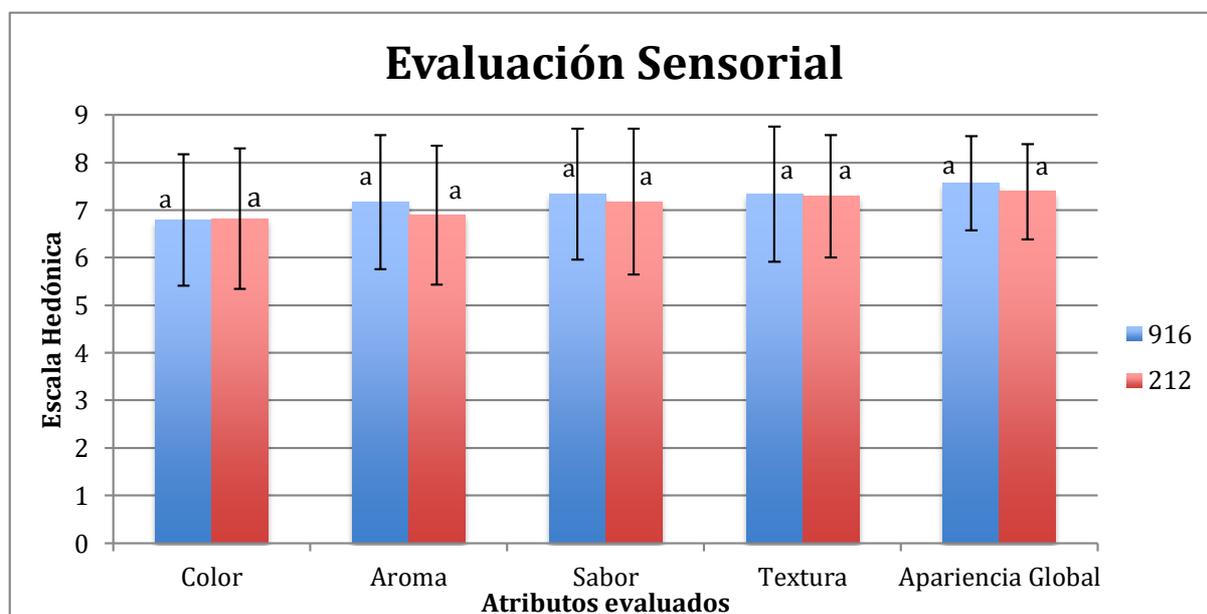
Tabla 9: Función de deseabilidad para la obtención de tratamientos optimizados

Parámetro	Optimización de Estabilidad,C2,C4, C5-C4,Volumen Especifico, Almidón Resistente y L* (212)			Optimización de Volumen Especifico y Almidón Resistente (916)		
	Objetivo	Importancia	Solución	Objetivo	Importancia	Solución
Glucosa Oxidasa(X ₁)	En rango	3	0.20	En rango	3	-0.16
Tiempo de cocción(X ₂)	En rango	3	1.41	En rango	3	1.30
Estabilidad	Maximizar	5	7.835	En rango	5	7.637
C2	Maximizar	5	0.347	En rango	5	0.341
C4	Maximizar	4	0.939	En rango	4	0.939
C5-C4	Minimizar	5	0.360	En rango	5	0.370
Volumen Especifico	Maximizar	5	2.973	Maximizar	5	2.975
Almidón Resistente	Maximizar	5	2.416	Maximizar	5	2.400
L*	En rango	3	54.822	En rango	3	54.810
Deseabilidad Total		0.82			0.71	

3.4. Evaluación Sensorial

Los resultados mostraron que no existió diferencia significativa en ninguno de los atributos medidos tanto para la muestra 916 como para la muestra 212 (**Figura 4**). Como se puede ver en el **Figura 4**, en cuanto al color ambas muestras obtuvieron una calificación promedio ubicada entre los valores 6 y 7 de la escala lo que demuestra que a los jueces les gusto ligeramente este atributo. En cuanto al aroma, la muestra 916 obtuvo un promedio de 7,1666 (Me gusta) y la 212 de 6,8888 (Me gusta ligeramente); tanto el sabor como textura recibieron una calificación promedio entre 7 y 8 que en la escala hedónica corresponde a “me gusta”. Por último, se puede decir que, en cuanto a la aceptación global del pan, los jueces otorgaron una calificación promedio de 7,5694 para la muestra 916 y para la muestra 212 una de 7,3888 dando como resultado una interpretación de que a los consumidores les gustó ambas formulaciones por igual.

En muchos de los comentarios los jueces establecieron que no se percibía una diferencia entre las muestras, esto es una afirmación adecuada pues el tiempo de cocción fue le mismo para ambas y la diferencia recaía en la cantidad de la enzima glucosa oxidasa, pero con los resultados obtenidos se pudo mostrar que las cantidades no otorgaron una diferencia significativa.



* Letras distintas para cada atributo indica diferencia significativa ($P \leq 0.05$)

Figura 4: Resultados Evaluación Sensorial

3.5. Análisis Proximal

Los resultados obtenidos de las dos formulaciones optimizadas se encuentran en la **Tabla 10**. En la norma NTE INEN 2945 se encuentran diferentes requisitos que debe cumplir un pan. La humedad debe tener un mínimo del 20% y un máximo del 40%, en las dos formulaciones (916 y 212), la humedad oscila entre el 33%, por lo que se cumple con la norma. En relación a la grasa debe contener un mínimo de 1.5% y máximo de 4%, en las dos formulaciones este valor esta alrededor del 2%. Por último la cantidad mínima de proteína que debe contener es de 7g/100g y ambas formulaciones contienen cerca de 10g/100g de producto (INEN, 2014). En normas mexicanas se establece que el contenido de cenizas debe estar en un rango desde 1.8% a 2.5%, las dos formulaciones están dentro del rango establecido (NMX, 1983). Las **Figuras 5 y 6**, muestran las etiquetas nutricionales de las dos formulaciones (916 y 212), donde se establece su aporte calórico total, de grasa y los valores diarios recomendados para una porción de 60g, que corresponde a 2 rebanadas.

Tabla 10: Análisis Proximal

Análisis	Resultado Obtenido (100g)	
	916	212
Grasa (g)	2.21 ± 0.14 ^a	2.27 ± 0.14 ^a
Sodio (mg)	499.01 ± 1.00 ^a	499.03 ± 0.96 ^a
Carbohidratos Totales (g)	45.98 ± 0.23 ^a	45.71 ± 0.25 ^a
Fibra (g)	5 ± 0.00 ^a	5 ± 0.00 ^a
Proteína (g)	9.98 ± 0.02 ^a	10.09 ± 0.06 ^a
Humedad (%)	33.56 ± 0.12 ^a	33.55 ± 0.12 ^a
Cenizas (g)	3.27 ± 0.08 ^a	3.28 ± 0.03 ^a

* Letras distintas para cada atributo indica diferencia significativa ($P \leq 0.05$)

3.5.1. Etiquetas Nutricionales

A continuación se muestran las etiquetas de las formulaciones correspondientes a 916 y 212, para 60g de porción (2 rebanas de pan).

Información Nutricional	
Tamaño de porción	2 rebanas (60g)
Porciones por envase	6
Cantidad por porción	
Energía (Calorías) 610 kJ (146 Cal)	
Energía de grasa (Calorías de grasa) 50kJ (12Cal)	
% del Valor Diario *	
Grasa total 1g	2%
Sodio 299 mg	13%
Carbohidratos totales 28g	9%
Proteína 6g	
* Los porcentajes de Valores Diarios están basados en una dieta de 8500 kJ (2000 calorías)	

Figura 5: Etiqueta Nutricional de la muestra 916

Información Nutricional	
Tamaño de porción	2 rebanas (60g)
Porciones por envase	6
Cantidad por porción	
Energía (Calorías) 603 kJ (144 Cal)	
Energía de grasa (Calorías de grasa) 50kJ(12Cal)	
% del Valor Diario *	
Grasa total 1g	2%
Sodio 300 mg	13%
Carbohidratos totales 27g	9%
Proteína 6g	
* Los porcentajes de Valores Diarios están basados en una dieta de 8500 kJ (2000 calorías)	

Figura 6: Etiqueta Nutricional de la muestra 212

4. CONCLUSIONES

Un mayor tiempo de cocción y valores medios de enzima GO influyeron positivamente en el aumento de la estabilidad. C2 incrementó, con valores medios de GO y un mayor tiempo de cocción. C4 fue mayor al tener valores medios de GO y valores mínimos de tiempo de cocción. C5-C4 disminuyó cuando aumentaba el tiempo de cocción y valores medios de GO. El volumen específico aumentó a valores más bajos de GO y un mayor tiempo de cocción. El contenido de almidón resistente aumentó cuando incrementa el tiempo de cocción y a valores medios de GO. En relación al color el valor de L* disminuye a medida que se tiene menor tiempo de cocción y menor cantidad de enzima.

La función de deseabilidad permitió realizar optimizaciones tomando en cuenta las variables más importantes como: estabilidad, C2, C4, C5-C4, Volumen Específico, Almidón Resistente y L*, para obtener las dos mejores formulaciones que fueron analizadas en la Evaluación Sensorial. No se obtuvo diferencia significativa en ninguno de los parámetros evaluados, como: color, aroma, sabor, textura y apariencia global, de acuerdo a la escala hedónica de 9 puntos; las dos formulaciones están en el rango de calificación de 7 = "Me gusta". En el análisis proximal tampoco existió diferencia significativa entre las formulaciones 916 y 212.

Se logró obtener un pan de molde con un mejor contenido nutricional, debido al aumento del almidón resistente tipo III mediante la cocción de zapallo y se determinó que el efecto de la enzima GO depende de la cantidad utilizada y el tipo de harina.

Se recomienda la maquinaria adecuada para obtención de harina de zapallo, con lo cual se conservarían sus propiedades de color.

5. BIBLIOGRAFÍA

- AACC. (2017). *International Approved Methods of Analysis*. Obtenido de <http://methods.aaccnet.org/>
- Alava, C. (2007). *Desarrollo del proceso y caracterización de la harina de zapallo y formulación de subproductos*. Recuperado el 20 de febrero de 2017, de <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/11932/3/ALAVA%20P INCAY%20CECIBEL%20LISBETH.pdf>
- AOAC. (2012). *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*. Virginia: Association of Official Agricultural Chemists.
- Arias, T. (Julio de 2015). *Evaluación del efecto de la sustitución parcial de harina de trigo (Triticum spp) por harina de banano cavendish (Musa acuminata) grado de madurez 3 sobre las características de masa y pan*. Recuperado el 1 de Diciembre de 2017, de Escuela Politecnica Nacional: <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/11035/1/CD-6368.pdf>
- Badui, S. (2013). *Química de los Alimentos*. Ciudad de México: Person.
- Bernabé, C. (2009). *Influencia de los componentes de la harina en la panificación. Panorama Panadero*.
- Birt, D. F. (2013). Resistant Starch: Promise for Improving Human Health. *Advances Nutrition*, 587-601.
- Bock, J. (2015). *Improving and Tailoring Enzymes for Food Quality and Functionality*. Canada: University of Guelph.
- Cantwell, M., & Suslow, T. (2014). *Pumpkin & Winter Squash: Recommendations for Maintaining Postharvest Quality*. Obtenido de Postharvest Center University of California: http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datastores/Vegetables_English/?uid=28&ds=799
- Castelli, E. (2002). *Ensayos comparativos de sustitutos del bromato de potasio para su uso en panificación*. Rosario: UCEL.
- Castro, L. (2013). *Utilización del zapallo (Curcubita maxima y Curcubita pepo) en la elaboración de compotas, Quevedo-Los Ríos*. Recuperado el 15 de enero de 2017, de <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/331/1/T-UTEQ-0010.pdf>
- Delgado, M., & Muentes, M. (2014). *Diseño de una línea de producción de granola complementada con semillas y pulpa deshidratada de zapallo*. Recuperado el 15 de enero de 2017, de <http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/123456789/30607/D-79848.pdf?sequence=-1&isAllowed=y>
- FAO. (13 de Diciembre de 2016). *Crops*. Recuperado el 15 de enero de 2017, de <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Flecha, M. (2015). La fermentación. *Procesos y Técnicas de Panificación*, 48-50.
- Font, V. (2013). *Elaboración de un plano de negocios para la producción y comercialización de zapallo en el departamento de treinta y tres*. Recuperado el 15 de enero de 2017, de <https://www.colibri.udelar.edu.uy/bitstream/123456789/1745/1/3896fon.pdf>

- Fu, Z., Chen, J., Luo, S., Liu, C., & Liu, W. (2015). Effect of food additives on starch retrogradation: A review. *Starch*, 69-78.
- GRANOTEC. (2015). *Linea enzimas Granozyme*. Recuperado el 26 de marzo de 2017, de <http://www.alim2015.com/evento/lunes/lanzamientos/01%20-%20Granotec%20-%20L%C3%ADnea%20enzim%C3%A1tica%20-%20ALIM%202015.pdf>
- Hablich, F. (2015). *Proyecto para la producción y comercialización de pulpa de zapallo en la ciudad de Guayaquil para exportación hacia EEUU*. Recuperado el 15 de enero de 2017, de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/7403/1/Tesis%20Felix%20Correccion%203%20Actualizada.pdf>
- INEC. (2014). *Anuario de estadísticas vitales, nacimientos y defunciones 2014*. Recuperado el 16 de enero de 2017, de <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/>
- INEN. (2012). *Sal Común. Determinación de Cloruro de Sodio*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización.
- INEN. (2014). *INEN*. Obtenido de http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/02/nte_inen_2945.pdf
- INEN. (16 de Enero de 2015). *Normalizacion Ecuatoriana*. Recuperado el 2 de Diciembre de 2017, de Pan: Requisitos: <http://www.normalizacion.gob.ec>
- Kundu, H., Bala Grewal, R., Goyal, A., Upadhyay, N., & Prakash, S. (2012). *Effect of incorporation of pumpkin (Curcubita moshcata) powder and guar gum on the rheological properties of wheat flour*. India: Association of Food Scientists & Technologists.
- Loor, K. (2008). Efecto de varios ciclos de enfriamiento/calentamiento en el contenido de almidón resistente tipo III en almidones de achira (*Canna edulis Ker*) y papa (*Solanum tuberosum*). *Universidad San Francisco de Quito*, 19-22.
- Loor, K. (2008). Efecto de varios ciclos de enfriamiento/calentamiento en el contenido de almidón resistente tipo III en almidones de achira (*Canna edulis Ker*) y papa (*Solanum tuberosum*). *Universidad San Francisco de Quito*, 13-14.
- Meléndez, A., Vicario, I., & Heredia, F. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 209-215.
- NMX. (1983). *NMX-F-159-S-1983*. Obtenido de <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-159-1983.pdf>
- Noor, A., Ho, L., Komathi, C., & Bhat, R. (2011). Evaluation of Resistant Starch in Crackers Incorporated whit Unpeeled and Peeled Pumpkin Flour . *American Journal of Food Technology*, 1054-1060.
- Pineda, S. (2013). Utilización de la harina de malanga (*Xanthosoma sagittifolium*) en la obtención de productos de panificación. *Universidad Tecnológica Equinoccial*, 54.
- Rey, E. (2016). *Producción y consumo de zapallo de las familias del canton Sigchos en el marco de la seguridad alimentaria*. Recuperado el 15 de enero de 2017, de <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/11424/Disertaci%C3%B3n%20Abril%202016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rodrigues, M., & Iemma, A. (2005). *Planjeamento de Experimentos e Otimização de Procesos*. Campinas: Casa do Pao Editora.
- Rodríguez-Ambroz, S., Islas-Hernández, J., Agama-Acevedo, E., Tovar, J., & Bello-Pérez, L. (2007). *Characterization of a fibre-rich powder prepared by liquefaction of unripe banana flour*. Recuperado el 26 de marzo de 2017, de www.sciencedirect.com
- Rosell, C. (2011). The Science of Doughs and Bread Quality. *Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention* , 5-12.

- Różyło, R., Gawlik-Dziki, U., Dzik, D., Jakubczyk, A., Karaś, M., & Różyło, K. (2014). Wheat Bread with Pumpkin (*Curcubita maxima* L.) Pulp as a Functional Food Product . *Food Technology & Biotechnology*, 430-438.
- Sarmiento, I. (Marzo de 2014). *ESTUDIO DE LA ADICIÓN DE HARINA DE CAMOTE EN PAN DE MOLDE*. Recuperado el 8 de Diciembre de 2017, de UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL:
http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/5065/1/55905_1.pdf
- Schmiele, M., Ferrari, M., Pedrosa, M., & Chang, Y. (2016). Mixolab™ for rheological evaluation of wheat flour partially replaced by soy protein hydrolysate and fructooligosaccharides for bread production. *Food Science and Technology*.
- Steffolani, M. (2010). *Efecto de las enzimas pentonasa, glucosa oxidasa y transglutaminasa en productos de panificación*. Recuperado el 15 de enero de 2017, de
http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2638/Documento_completo_original.pdf?sequence=1.
- UNICEF. (2013). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición*. Quito: INEC.
- USDA. (Mayo de 2016). *USDA National Nutrient Database for Standard Reference* .
Obtenido de Nutrient Data Laboratory:
<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/3141>
- Vemulapalli, V., Miller, K., & Hoseney, R. (1998). Glucose Oxidase in Breadmaking Systems. *Cereal Chemistry*, 439-442.
- Webb, G. (2007). *Complementos nutricionales y alimentos funcionales*. Zaragoza: Acribia, S.A.
- Wongsagonsup, R., Kittisuban, P., Yaowalak, A., & Suphantharika, M. (2015). Physical and sensory qualities of composite wheat-pumpkin flour bread with addition of hydrocolloids. *International Food Research Journal*, 745-752.

6. ANEXOS

Anexo A: Aleatorización de las muestras

Codificación	Formulación
HZ1	3
HZ2	9
HZ3	6
HZ4	7
HZ5	1
HZ6	2
HZ7	10
HZ8	5
HZ9	4
HZ10	12
HZ11	8
HZ12	11

Anexo B: Resultados Mixolab

Mixolab

GRANOTEC. S.A.
 KM10.5 DE LA VIA A DAULE LOTIZACION
 EXPOGRANOS MZ 16, SOLAR 4
 GUAYAQUIL
 ECUADOR

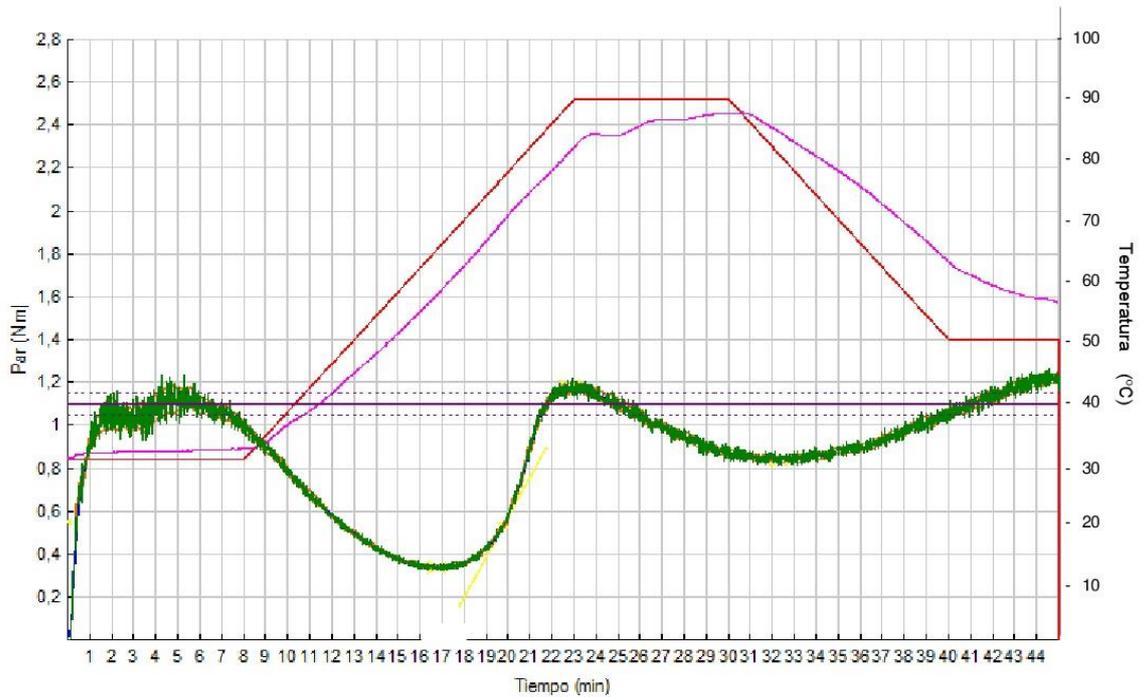
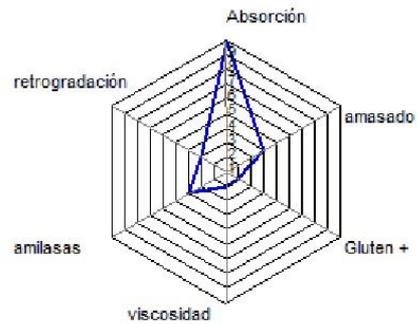
TEST - HZ 1

Fecha : 28/08/2017 Hora : 14:59
 Muestra :
 Hydration : 76,1 % base 14% (b14)
 Contenido de 12,30 %
 Indice: 9-31-132

Protocolo : Chopin+
 Peso de la masa : 75,0 g
 Temperatura del depósito : 30,0 °C
 Velocidad de amasado : 80 rpm

α :	-0,092	Nm/min
β :	0,186	Nm/min
γ :	-0,042	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Masa	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	4,70	1,142	31,4	0,131	6,73
CS	8,00	0,996	31,7		5,02
C2	16,78	0,337	57,6		
C3	22,83	1,180	81,3		
C4	32,30	0,837	84,6		
C5	45,02	1,215	56,1		



Mixolab

GRANOTEC. S.A.
 KM10.5 DE LA VIA A DAULE LOTIZACION
 EXPOGRANOS MZ 16, SOLAR 4
 GUAYAQUIL
 ECUADOR

TEST - HZ 2

Fecha : 29/08/2017 Hora : 12:56

Muestra :

Hydration : 73,5 % base 14% (b14)

Contenido de 12,30 %

Indice: 9-21-222

Protocolo : Chopin+

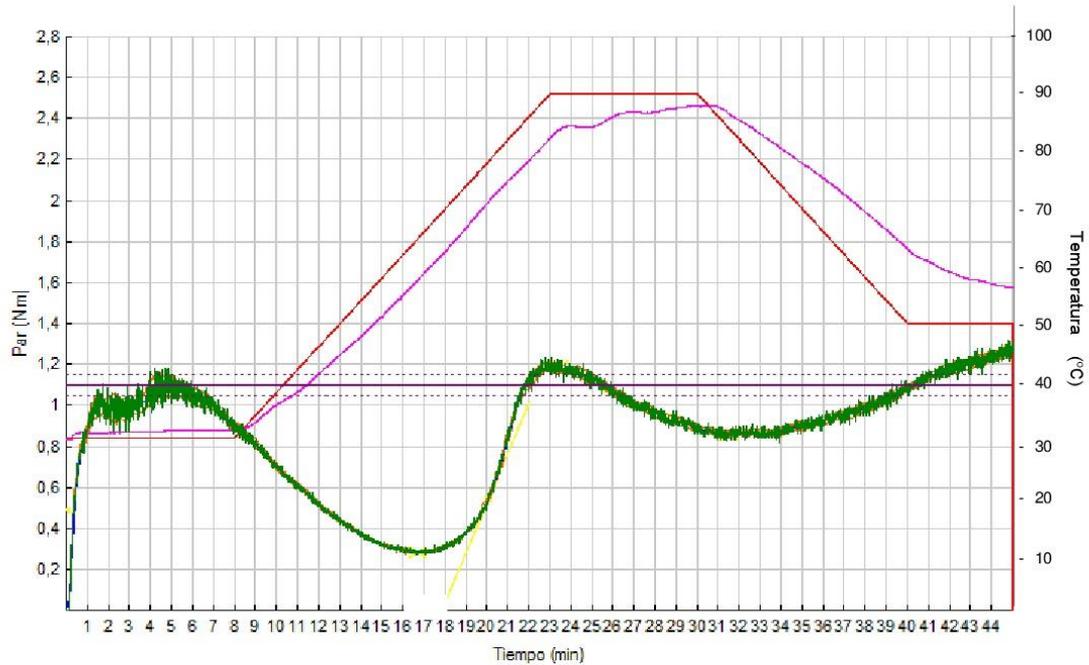
Peso de la masa : 75,0 g

Temperatura del depósito : 30,0 °C

Velocidad de amasado : 80 rpm

α :	-0,080	Nm/min
β :	0,242	Nm/min
γ :	-0,040	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Masa	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	4,87	1,103	31,2	0,100	6,25
CS	8,00	0,904	31,3		4,85
C2	16,72	0,284	57,6		
C3	23,48	1,190	83,8		
C4	31,52	0,857	86,5		
C5	45,02	1,263	56,2		



TEST

Amasador a n°1

1/2

Nº de aparato :

Versión4.0.8+4.1i

Mixolab

GRANOTEC. S.A.
 KM10.5 DE LA VIA A DAULE LOTIZACION
 EXPOGRANOS MZ 16, SOLAR 4
 GUAYAQUIL
 ECUADOR

TEST - HZ 3

Fecha : 30/08/2017 Hora : 12:13

Muestra :

Hydration : 72,2 % base 14% (b14)

Contenido de 11,80 %

Indice: 9-21-232

Protocolo : Chopin+

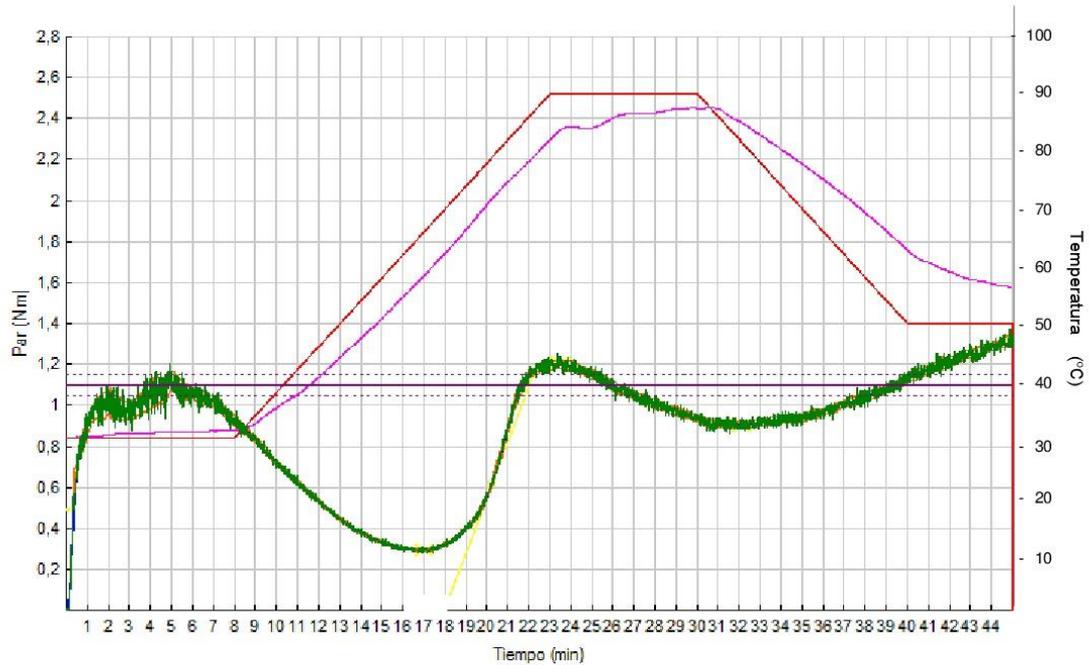
Peso de la masa : 75,0 g

Temperatura del depósito : 30,0 °C

Velocidad de amasado : 80 rpm

α :	-0,084	Nm/min
β :	0,270	Nm/min
γ :	-0,042	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Masa	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	4,97	1,110	31,0	0,100	6,32
CS	8,00	0,927	31,3		4,85
C2	17,02	0,294	58,4		
C3	23,50	1,207	83,8		
C4	32,13	0,900	85,0		
C5	45,00	1,310	56,3		



TEST

Amasador
a n°1

1/2

Nº de aparato :

Versión4.0.8+4.1i

Mixolab

GRANOTEC. S.A.
 KM10.5 DE LA VIA A DAULE LOTIZACION
 EXPOGRANOS MZ 16, SOLAR 4
 GUAYAQUIL
 ECUADOR

TEST - HZ 4

Fecha : 31/08/2017 Hora : 09:41

Muestra :

Hydration : 68,0 % base 14% (b14)

Contenido de 11,00 %

Indice: 9-20-233

Protocolo : Chopin+

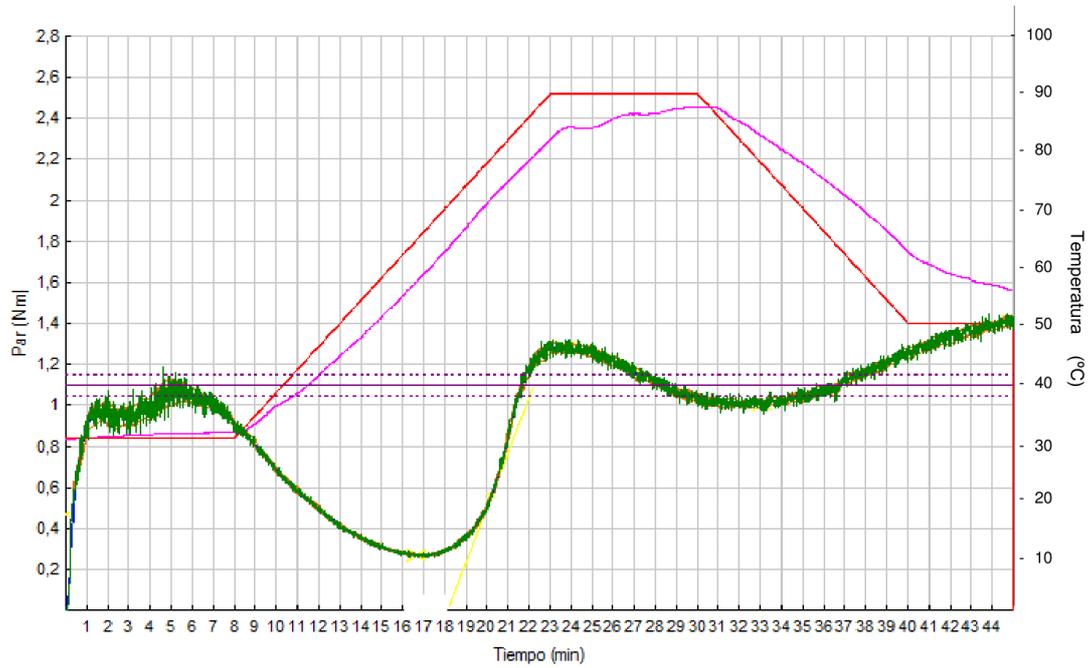
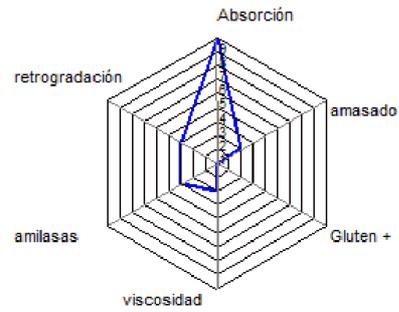
Peso de la masa : 75,0 g

Temperatura del depósito : 30,0 °C

Velocidad de amasado : 80 rpm

α :	-0,086	Nm/min
β :	0,268	Nm/min
γ :	-0,048	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Masa	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	5,12	1,070	30,8	0,110	6,75
CS	8,00	0,909	31,0		4,5
C2	16,68	0,268	57,3		
C3	23,78	1,285	84,0		
C4	33,10	1,002	82,5		
C5	44,98	1,410	55,8		



TEST

Amasador
a n°1

1/2

Nº de aparato :

Versión4.0.8+4.1i

Mixolab

GRANOTEC. S.A.
 KM10.5 DE LA VIA A DAULE LOTIZACION
 EXPOGRANOS MZ 16, SOLAR 4
 GUAYAQUIL
 ECUADOR

TEST - HZ 5

Fecha : 06/09/2017 Hora : 09:38

Muestra :

Hydration : 75,0 % base 14% (b14)

Contenido de 12,20 %

Indice: 9-21-233

Protocolo : Chopin+

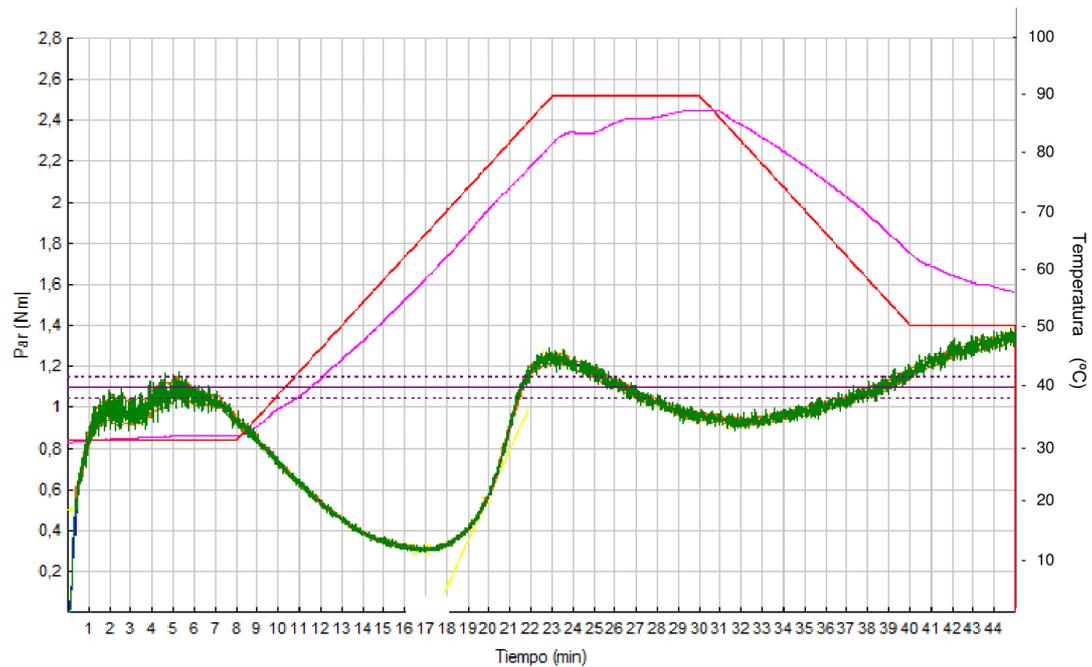
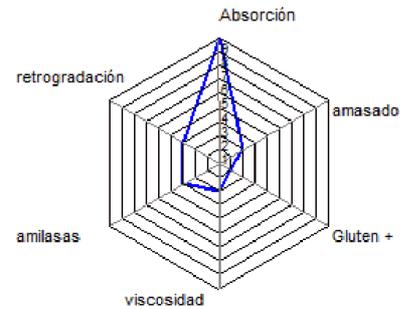
Peso de la masa : 75,0 g

Temperatura del depósito : 30,0 °C

Velocidad de amasado : 80 rpm

α :	-0,080	Nm/min
β :	0,224	Nm/min
γ :	-0,036	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Masa	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	5,17	1,096	30,7	0,111	6,55
CS	8,00	0,938	30,8		4,83
C2	16,80	0,307	57,4		
C3	23,02	1,244	81,6		
C4	31,80	0,921	85,3		
C5	45,02	1,349	55,8		



TEST

Amasador
a n°1

1/2

Nº de aparato :

Versión4.0.8+4.1i

Mixolab

GRANOTEC. S.A.
 KM10.5 DE LA VIA A DAULE LOTIZACION
 EXPOGRANOS MZ 16, SOLAR 4
 GUAYAQUIL
 ECUADOR

TEST - HZ 6

Fecha : 06/09/2017 Hora : 13:56

Muestra :

Hydration : 75,0 % base 14% (b14)

Contenido de 12,10 %

Indice: 9-21-232

Protocolo : Chopin+

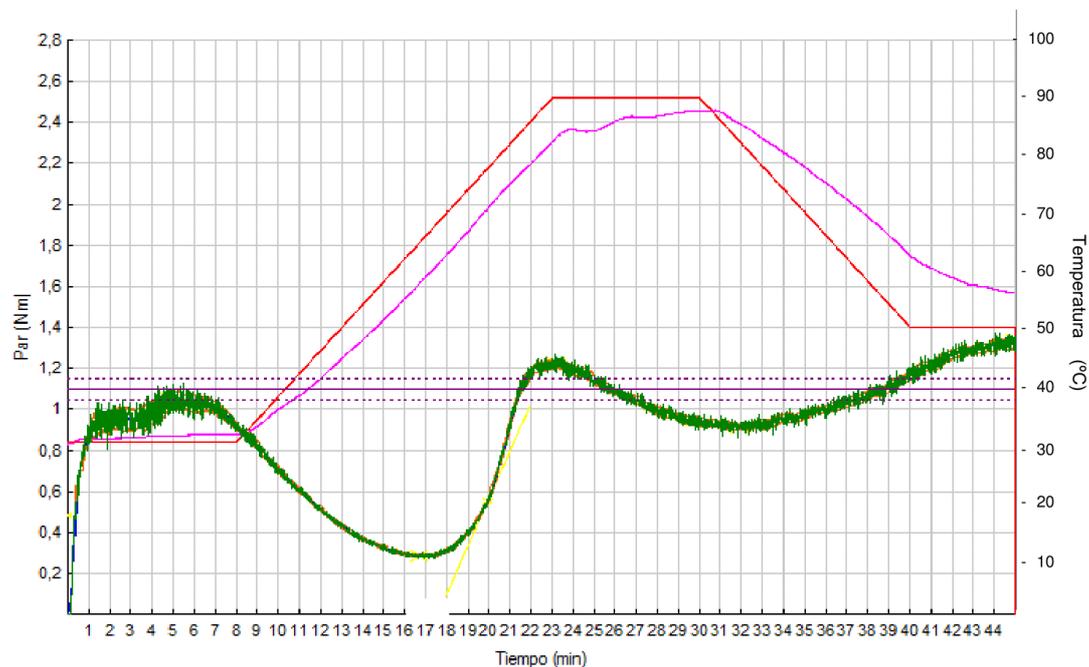
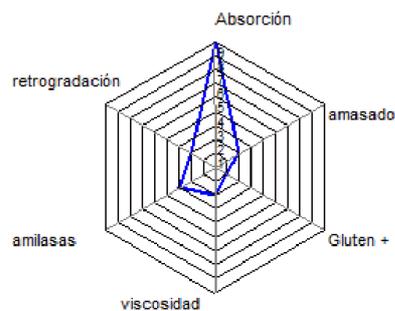
Peso de la masa : 75,0 g

Temperatura del depósito : 30,0 °C

Velocidad de amasado : 80 rpm

α :	-0,088	Nm/min
β :	0,232	Nm/min
γ :	-0,048	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Masa	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	4,85	1,052	31,1	0,093	6,92
CS	8,00	0,919	31,3		4,67
C2	16,70	0,285	57,7		
C3	23,20	1,226	83,1		
C4	31,93	0,912	85,5		
C5	45,02	1,336	56,0		



TEST

Amasador
a n°1

1/2

Nº de aparato :

Versión4.0.8+4.1i

Mixolab

GRANOTEC. S.A.
 KM10.5 DE LA VIA A DAULE LOTIZACION
 EXPOGRANOS MZ 16, SOLAR 4
 GUAYAQUIL
 ECUADOR

TEST - HZ 7

Fecha : 06/09/2017 Hora : 17:32

Muestra :

Hydration : 72,3 % base 14% (b14)

Contenido de 12,40 %

Indice: 9-31-233

Protocolo : Chopin+

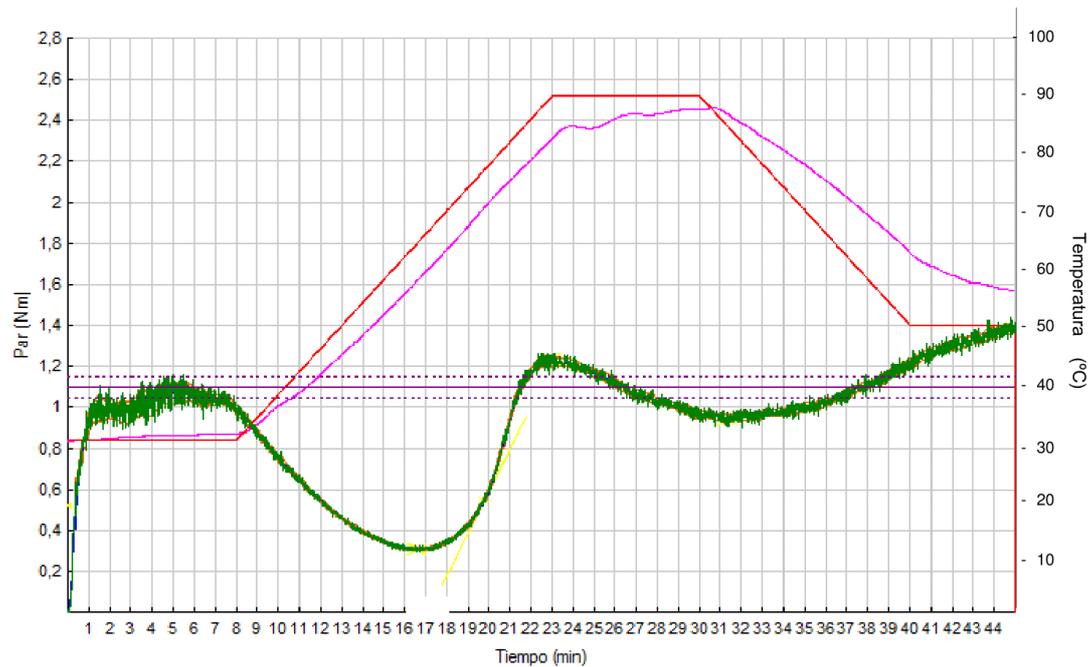
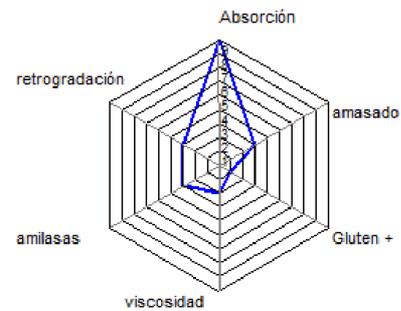
Peso de la masa : 75,0 g

Temperatura del depósito : 30,0 °C

Velocidad de amasado : 80 rpm

α :	-0,088	Nm/min
β :	0,206	Nm/min
γ :	-0,040	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Masa	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	5,05	1,083	30,8	0,101	7,50
CS	8,00	0,989	31,0		4,6
C2	16,62	0,308	57,9		
C3	22,98	1,230	82,4		
C4	31,35	0,941	86,8		
C5	45,00	1,384	56,0		



TEST

Amasador
a n°1

1/2

Nº de aparato :

Versión4.0.8+4.1i

Mixolab

GRANOTEC. S.A.
 KM10.5 DE LA VIA A DAULE LOTIZACION
 EXPOGRANOS MZ 16, SOLAR 4
 GUAYAQUIL
 ECUADOR

TEST - HZ 8

Fecha : 08/09/2017 Hora : 12:06

Muestra :

Hydration : 72,3 % base 14% (b14)

Contenido de 12,50 %

Indice: 9-31-233

Protocolo : Chopin+

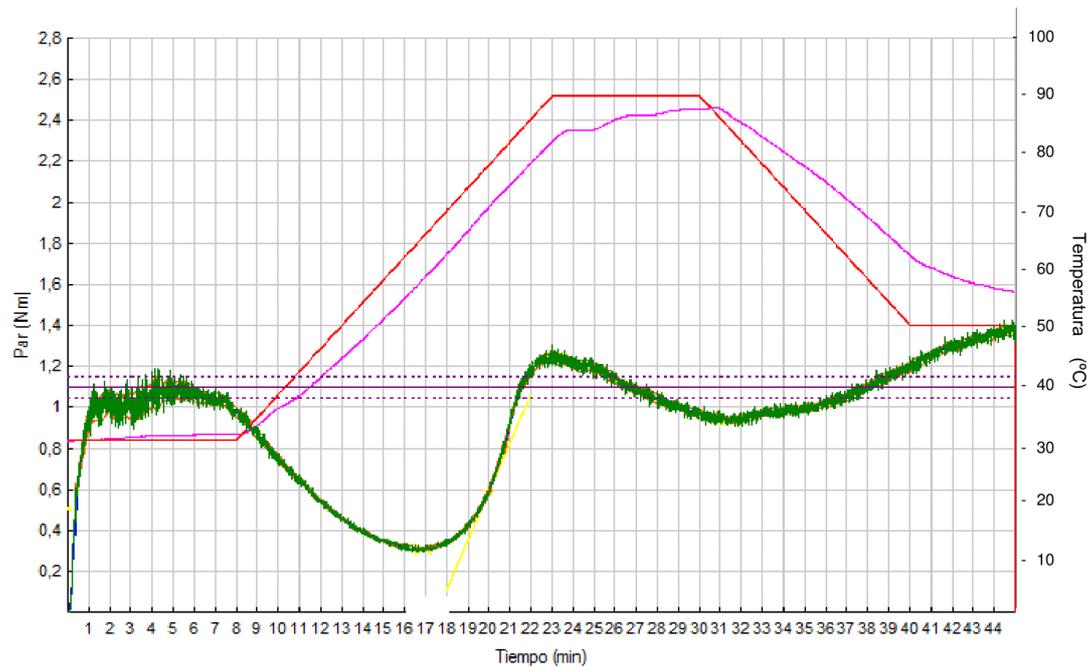
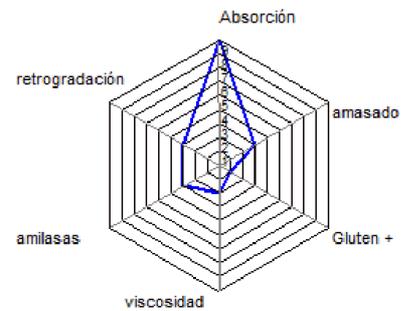
Peso de la masa : 75,0 g

Temperatura del depósito : 30,0 °C

Velocidad de amasado : 80 rpm

α :	-0,082	Nm/min
β :	0,238	Nm/min
γ :	-0,042	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Masa	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	4,95	1,088	30,8	0,110	7,42
CS	8,00	0,976	31,0		4,67
C2	16,87	0,307	57,9		
C3	23,10	1,242	82,3		
C4	31,42	0,937	86,7		
C5	45,00	1,380	55,8		



TEST

Amasador
a n°1

1/2

Nº de aparato :

Versión4.0.8+4.1

Mixolab

GRANOTEC. S.A.
 KM10.5 DE LA VIA A DAULE LOTIZACION
 EXPOGRANOS MZ 16, SOLAR 4
 GUAYAQUIL
 ECUADOR

TEST - HZ 9

Fecha : 15/09/2017 Hora : 10:59

Muestra :

Hydration : 74,8 % base 14% (b14)

Contenido de 12,20 %

Indice: 9-41-132

Protocolo : Chopin+

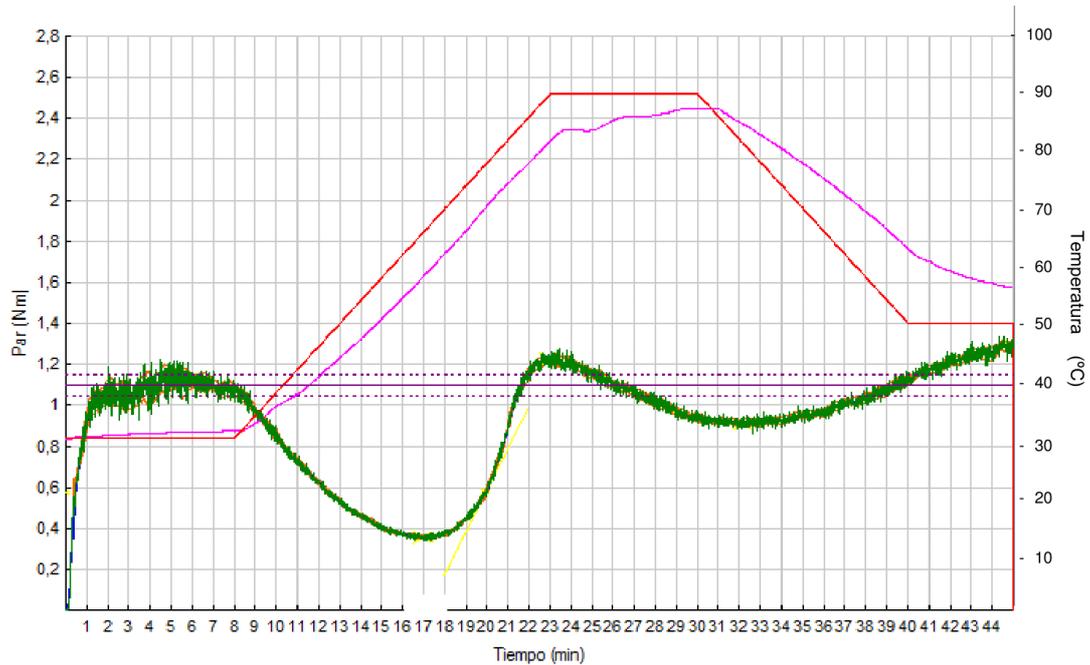
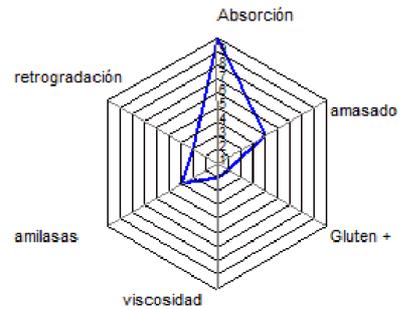
Peso de la masa : 75,0 g

Temperatura del depósito : 30,0 °C

Velocidad de amasado : 80 rpm

α :	-0,088	Nm/min
β :	0,204	Nm/min
γ :	-0,052	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Masa	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	5,00	1,143	31,0	0,117	7,75
CS	8,00	1,071	31,2		4,98
C2	16,97	0,356	58,1		
C3	22,98	1,224	81,7		
C4	32,17	0,910	84,7		
C5	45,00	1,287	56,3		



TEST

Amasador a n°1

1/2

Nº de aparato :

Versión4.0.8+4.1i

Mixolab

GRANOTEC. S.A.
 KM10.5 DE LA VIA A DAULE LOTIZACION
 EXPOGRANOS MZ 16, SOLAR 4
 GUAYAQUIL
 ECUADOR

TEST - HZ 10

Fecha : 18/09/2017 Hora : 09:43

Muestra :

Hydration : 70,9 % base 14% (b14)

Contenido de 11,70 %

Indice: 9-31-233

Protocolo : Chopin+

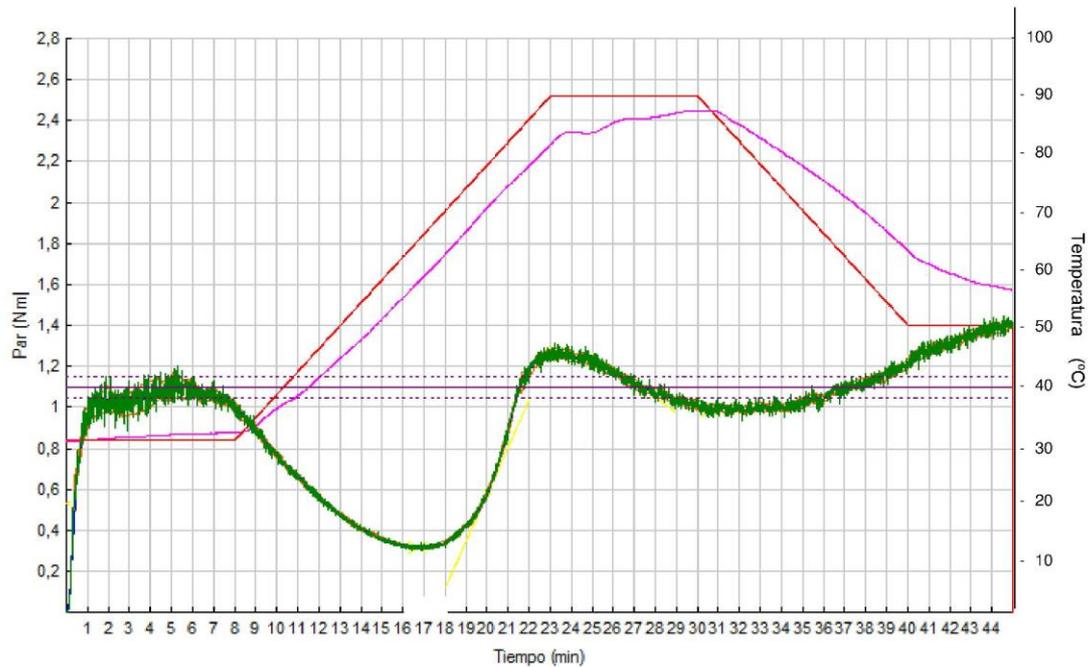
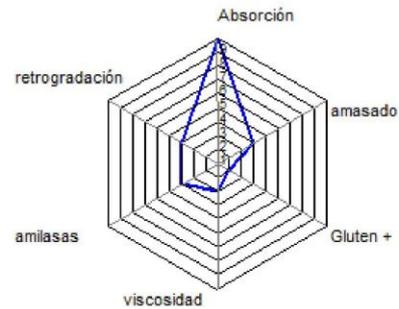
Peso de la masa : 75,0 g

Temperatura del depósito : 30,0 °C

Velocidad de amasado : 80 rpm

α :	-0,086	Nm/min
β :	0,230	Nm/min
γ :	-0,070	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Masa	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	5,37	1,113	31,0	0,105	7,33
CS	8,00	1,001	31,2		4,73
C2	16,73	0,316	57,5		
C3	23,38	1,268	82,9		
C4	30,65	0,983	87,5		
C5	45,02	1,408	56,0		



TEST

Amasador
a n°1

1/2

Nº de aparato :

Versión4.0.8+4.1i

Mixolab

GRANOTEC. S.A.
 KM10.5 DE LA VIA A DAULE LOTIZACION
 EXPOGRANOS MZ 16, SOLAR 4
 GUAYAQUIL
 ECUADOR

TEST - HZ 11

Fecha : 18/09/2017 Hora : 14:43

Muestra :

Hydration : 73,0 % base 14% (b14)

Contenido de 12,40 %

Indice: 9-41-233

Protocolo : Chopin+

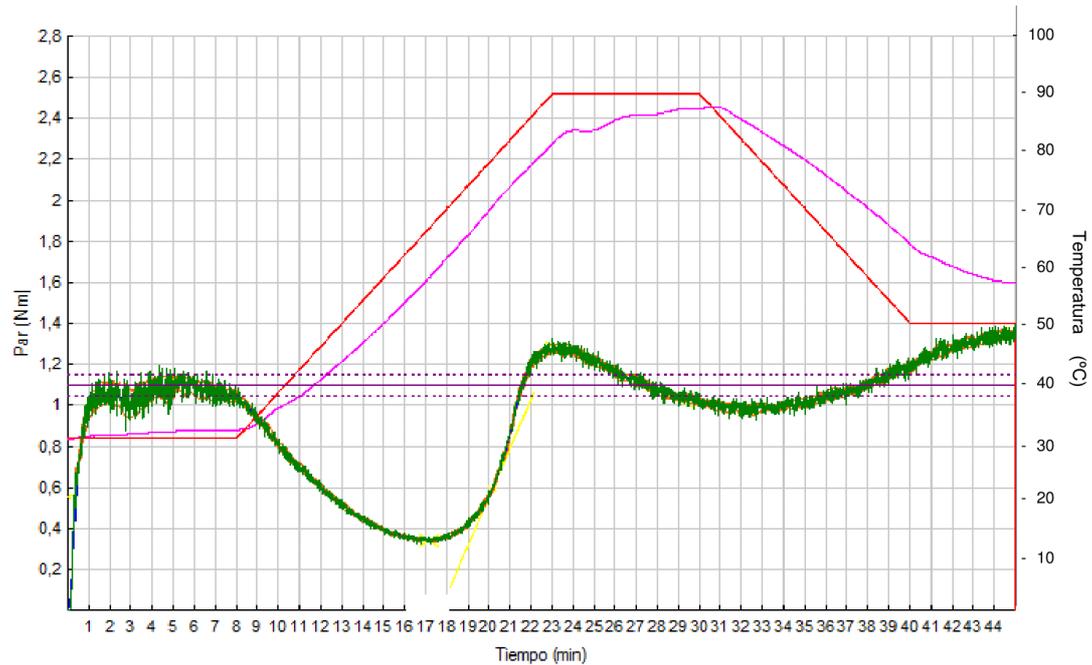
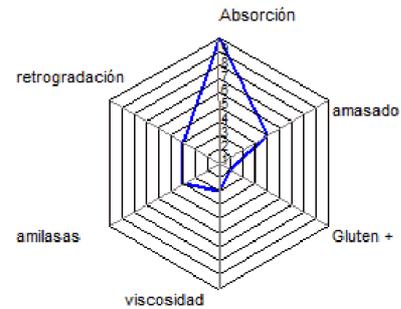
Peso de la masa : 75,0 g

Temperatura del depósito : 30,0 °C

Velocidad de amasado : 80 rpm

α :	-0,092	Nm/min
β :	0,238	Nm/min
γ :	-0,048	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Masa	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	5,23	1,116	31,2	0,069	7,72
CS	8,00	1,045	31,4		4,92
C2	17,18	0,340	58,1		
C3	23,17	1,281	81,9		
C4	32,33	0,976	84,8		
C5	45,02	1,350	56,9		



TEST

Amasador
a n°1

1/2

Nº de aparato :

Versión4.0.8+4.1i

Mixolab

GRANOTEC. S.A.
 KM10.5 DE LA VIA A DAULE LOTIZACION
 EXPOGRANOS MZ 16, SOLAR 4
 GUAYAQUIL
 ECUADOR

TEST - HZ 12

Fecha : 19/09/2017 Hora : 14:29

Muestra :

Hydration : 71,3 % base 14% (b14)

Contenido de 12,40 %

Indice: 9-31-233

Protocolo : Chopin+

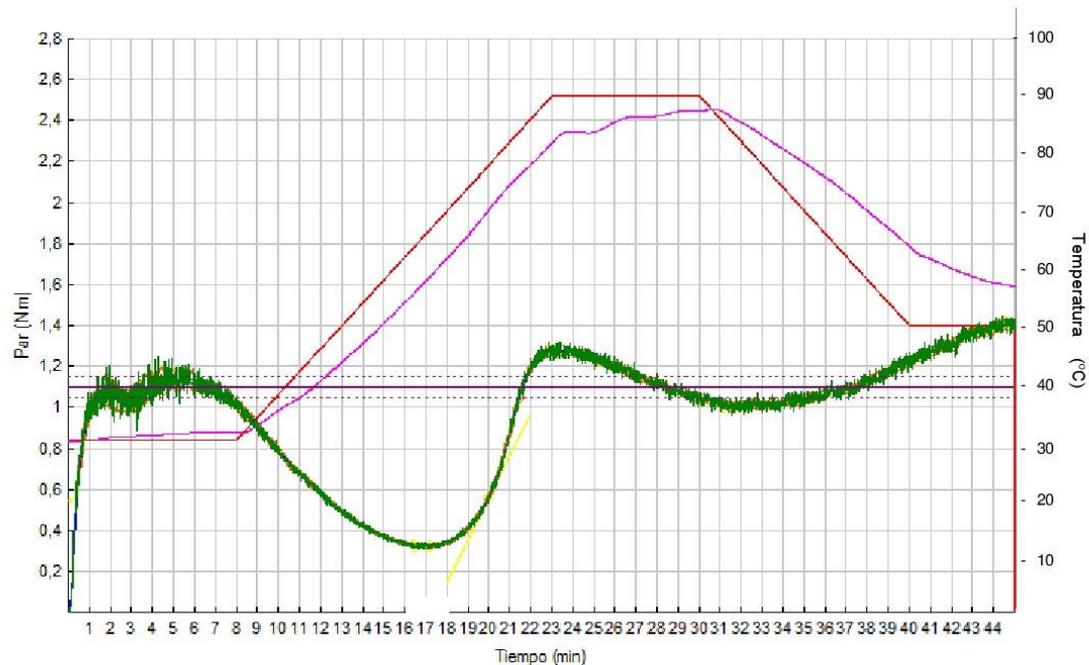
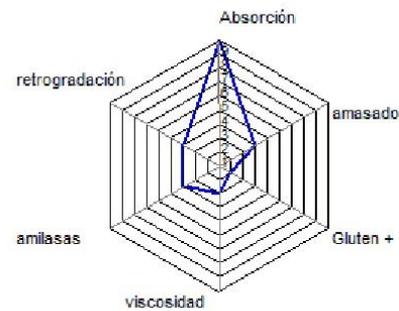
Peso de la masa : 75,0 g

Temperatura del depósito : 30,0 °C

Velocidad de amasado : 80 rpm

α :	-0,090	Nm/min
β :	0,206	Nm/min
γ :	-0,046	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Masa	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	4,97	1,146	31,0	0,088	7,20
CS	8,00	1,018	31,3		4,85
C2	16,83	0,323	57,2		
C3	23,15	1,282	82,3		
C4	31,58	1,002	86,2		
C5	45,00	1,414	56,7		



TEST

Amasador
a n°1

1/2

Nº de aparato :

Versión4.0.8+4.1i

Anexo C: Metodología Humedad

Moisture

AACC International Method **44-15.02**

Page 1 of 4

Moisture—Air-Oven Methods

Final approval October 30, 1975; Reapproval November 3, 1999

Objective

These methods determine moisture content as loss in weight of a sample when heated under specified conditions. The results are in close agreement with those obtained by **Method 44-40.01** (vacuum-oven). The methods are applicable to flour, semolina, bread, all kinds of grains and cereal products, and food products (except those that are sugar coated). These methods are not recommended for feeds and feedstuffs when fat determination is to be made on dried samples.

Apparatus

1. Laboratory mill, equipped with 18- or 20-mesh screen and 4-oz receiving bottle; should grind without undue exposure to atmosphere and without appreciable heating.
2. Oven (either gravity-convection or mechanical-convection), capable of being maintained at 130° ($\pm 1^\circ$) uniformly throughout oven and provided with good ventilation. Thermometer shall be so situated in oven that tip of bulb is level with top of moisture dishes but not directly over any dish.
3. Oven for drying corn and soybeans, meeting requirements of oven in item 2 except that it is maintained at 103° ($\pm 1^\circ$). Testing at 130° is not recommended for corn and soybeans.
4. Moisture dishes having diameter of about 55 mm and height of about 15 mm. They should be of heavy-gauge aluminum with slightly tapered sides and provided with tightly fitting slip-in covers that are designed to fit snugly under dishes when they are placed in oven. Both dish and cover should be identified by same number. Before using, dry for 1 hr at 130°, cool in desiccator, and obtain tare weight. See Note 1.
5. Airtight desiccator containing activated alumina, molecular sieves (type 4A or 4A X W), or other equally suitable desiccant. See Note 2.
6. Balance, accurate to at least 1 mg.

Procedure

One-stage

For samples containing less than 13% moisture, except soybeans, for which a level of 10% is applicable; also for flour, cornmeal, farina, and semolina except for grinding.

1. Grind 30- to 40-g sample in mill. Mix rapidly with spoon or spatula and transfer immediately a 2- to 3-g portion to each of two or more tared moisture dishes. Cover and weigh dishes at once. Subtract tare weights and record weight of sample. Clean mill between samples.
2. Uncover dishes and place them on shelf of oven; place covers under dishes. Insert shelf in oven at level of thermometer bulb. Heat for exactly 60 min after oven recovers its temperature. See Note 3.

Moisture—Air-Oven Methods (continued)

3. Remove shelf and dishes from oven, cover rapidly (using rubber finger insulators), and transfer to desiccator as quickly as possible. Weigh dishes after they reach room temperature (45–60 min usually). Determine loss in weight as moisture. See equation 1. Replicate determinations must check within 0.2% moisture; otherwise repeat determination.

Two-stage

For samples containing 13% or more moisture (10% for soybeans), loss of moisture incident to grinding is likely to be excessive; hence, the following two-stage procedure should be used.

1. Fill two or more tared moisture dishes nearly full with representative portions of unground sample. Cover and weigh dishes. Subtract tare weights and record weight of sample.

2. Uncover dishes and place covers under dishes. Place tins in well-ventilated place (preferably on top of heated oven protected from dust) so that sample will dry reasonably fast and reach approximate air-dry condition. This will usually be accomplished in 14–16 hr when top of heated oven is used, or approximately 60 hr when room temperature is used for this preliminary drying. In all cases, moisture content should be reduced to less than 10%, ideally to 7–8% in air-drying stage.

3. Cover dishes containing air-dried samples and weigh them soon after they cool to room temperature. Determine loss in weight and record it as moisture loss due to air-drying, using equation 1.

4. Using air-dried sample, follow one-stage procedure described above, starting with grinding step. Calculate total moisture content by using equation 3.

Air-oven, for corn and soybeans, at 103°

Place approximately 15 g of representative portion of unground sample in each of two or more tared moisture dishes. Weigh covered dishes and contents. Subtract weight of each dish from total weight and record result as weight of sample. Put covers under dishes and heat for 72 hr in oven regulated at 103 ± 1°. Dishes should be placed on single shelf with bulb of oven thermometer as close as possible to them. At end of heating period, remove shelf containing dishes, cover dishes immediately, and place in desiccator. Weigh dishes when they reach room temperature. Determine loss in weight as moisture by using equation 1.

Replicate determinations should check within 0.2% moisture.

Air-oven, for flax, at 103°

Proceed as above for corn and soybeans, except use 5- to 7-g sample and 4-hr oven time.

Moisture—Air-Oven Methods (continued)*Bread, two-stage*

Air-dry and grind sample as directed in **Method 62-05.01**. Using 2- to 3-g portion of ground air-dried sample, follow one-stage procedure described above. Calculate total moisture loss by using equation 2. To obtain percent of total solids in fresh loaf, subtract percent total moisture from 100.

Calculation

Equation 1 (one-stage and 103° air oven):

$$\% \text{ Moisture} = \frac{A}{B} \times 100$$

in which A = moisture loss in grams, B = original weight of sample.

Equation 2 (two-stage):

$$\% \text{ Total solids} = \frac{Y \times Z}{X}$$

where X = weight of original sample used for air-drying, Y = weight of sample after air-drying, Z = percent total *solids* in prepared ground sample (total solids = 100% – percent moisture at assay).

Equation 3:

$$\% \text{ Total moisture} = A + \frac{(100 - A)B}{100}$$

where A = percent moisture loss on air-drying, B = percent moisture loss as determined by oven-drying.

Notes

1. Tare weight will usually remain constant within a few tenths of mg for approximately 1 year if dishes are dumped and then carefully wiped clean with a soft cloth.
2. Silica gel and anhydrous CaCl_2 are not suitable desiccants.
3. Oven should regain temperature within 15–20 min after insertion of a full load (24 moisture dishes). If oven requires a longer time to recover, it should not be used.

References

1. Anderson, J. E. 1936. Some factors concerning vacuum-oven moisture determination. *Cereal Chem.* 13:437.
2. AOAC International. 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th ed. Methods 925.10 and 926.05. The Association, Arlington, VA.
3. Christensen, C. M., Miller, B. S., and Johnston, J. A. 1992. Pages 39-54 in: *Storage of Cereal Grains and Their Products*, 4th ed., D. B. Sauer, ed. Am. Assoc. Cereal Chem., St. Paul, MN.

Moisture—Air-Oven Methods (continued)

4. Fosnot, R. H., and Haman, R. W. 1945. A preliminary investigation of the application of the Karl Fischer reagent to the determination of moisture in cereals and cereal products. *Cereal Chem.* 22:41.
5. Hart, J. R. Feinstein, L., and Golumbic, C. 1959. Oven methods for precise measurement of moisture content of seeds. U.S. Department of Agriculture. Marketing Research Report 304.
6. Hart, J. R., and Neustadt, M. H. 1957. Application of the Karl Fischer method to grain moisture determination. *Cereal Chem.* 34:26.
7. Hlynka, I., and Robinson, A. D. 1954. Moisture and its measurement. Pages 1–45 in: *Storage of Cereal Grains and Their Products*, 1st ed. J. A. Anderson and A. W. Alcock, eds. Am. Assoc. Cereal Chem., St. Paul, MN.
8. Oxley, T. A., and Pixton, S. W. 1960. Determination of moisture content in cereals. II. Errors in the determination by oven drying of known changes in moisture content. *J. Sci. Food Agric.* 11:315.
9. Oxley, T. A., Pixton, S. W., and Howe, R. W. 1960. Determination of moisture content in cereals. I. Interaction of type of cereal and oven method. *J. Sci. Food Agric.* 11:18.
10. U.S. Department of Agriculture. 1971. Federal Grain Inspection Serv. Equipment Manual, GR Instruction 916-6, chapt. XII. (Nov.)