UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

Efecto de la adición de transglutaminasa, xilanasa, celulasa y suero de leche en polvo en las propiedades reológicas de masa de pan de molde

Sistematización de experiencias prácticas de investigación y/o intervención

Gabriel Enrique Reyes Mena

Ingeniería en Alimentos

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

Quito, 9 de mayo de 2019

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ COLEGIO CIENCIAS E INGENIERÍAS

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN

Efecto de la adición de transglutaminasa, xilanasa, celulasa y suero de leche en polvo en las propiedades reológicas de masa de pan de molde

Gabriel Enrique Reyes Mena

Calificación:	
Nombre del profesor, Título académico	María Gabriela Vernaza, Ph.D.
Firma del profesor	

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:	Gabriel Enrique Reyes Mena
Código:	00125765
Cédula de Identidad:	1724232416

Quito, 9 mayo de 2019

Lugar y fecha:

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios porque permitió terminar mi carrera en la universidad.

A mis padres, Jaime y Nelly por brindarme el sustento durante toda mi carrera, gracias por todo su esfuerzo y sacrificio.

A mis abuelitos, Galo, Martha, Alba y Jaime, por darme su ejemplo y consejos.

A mis hermanos Harold, Liz y Mateo, por siempre estar preocupados por mí y ver por mi bienestar.

A mi familia en general, tíos, tías, primos por el cariño y aprecio que me dan.

A mi tutora de trabajo de titulación, Gabriela por su guía, amabilidad y enseñanza durante este proceso, tambien a Lucía por su ayuda y consejos.

A Diana, Jenifer, Joy, Estefy, Marielisa, Meli, Antonella y Luis, por todo el apoyo y ayuda, ustedes hicieron que la vida universitaria sea una de las experiencias más bonitas y jamás voy a olvidarla.

RESUMEN

Dentro de la industria de alimentos existen varios subproductos, uno de estos es el suero de leche. Este contiene un alto valor nutricional atribuido a las proteínas con aminoácidos esenciales y de cadena ramificada. A nivel mundial, el suero de leche está siendo procesado para obtener concentrados que sirven como suplemento alimenticio. En el Ecuador existe un gran potencial para utilizar el suero que es considerado como desperdicio principalmente en la industria de pequeña escala. El objetivo de este estudio fue utilizar suero de leche en polvo concentrado (WPC) junto con una mezcla de enzimas (transglutaminasa, xilanasa y celulasa) para evaluar el comportamiento reológico en masa de pan de molde. Se utilizó un diseño central compuesto (DCC) con arreglo factorial 2². Las variables de estudio fueron WPC (0 - 10%) y enzimas (0 - 150 ppm). Las características reológicas fueron analizadas por Mixolab. Con la metodología de superficie de respuesta (MRS) se obtuvo modelos matemáticos con un valor p<0.05, un R^2 mínimo de 0.8 y consecutivamente superficies para las siguientes respuestas: absorción de agua (%), estabilidad (min), tiempo de desarrollo (min), C2-C1 (Nm) y C3-C2 (Nm). Posteriormente, se optimizó para obtener dos formulaciones: una con mejores características reológicas (925) y otra con mejor valor nutricional (719). La evaluación sensorial mostró una aceptación adecuada para las formulaciones óptimas. De igual manera el análisis fisicoquímico mostró un mejor valor nutricional, logrando aumentar el contenido de proteína y grasa, en un pan aceptable para el consumidor.

Palabras clave: Reología de masas, Mixolab, suero de leche en polvo (WPC), transglutaminasa, celulasa, xilanasa, pan.

ABSTRACT

In the food industry there are several byproducts, one of them is whey. This contains a high nutritional value attributed to proteins with essential and branched chained amino acids. Whey is being processed globally to obtain concentrates that serve as a nutritional supplement. In Ecuador's small-scale industry there is a great potential to use the serum that is usually considered as waste. The objective of this study was to use concentrated whey powder (WPC) together with a mixture of enzymes (transglutaminase, xylanase and cellulase) to evaluate the rheological behavior of bread dough. A central composite design (CCD) with a factorial arrangement 2² was used. The study variables were WPC (0 - 10%) and enzymes (0 - 150 ppm). The response surface methodology (RSM) was used to obtain mathematical models with a value p < 0.05, R^2 minimum of 0.8, and consecutively surfaces for the following variables: water absorption (%), stability (min), development time (min), C2-C1 (Nm) and C3-C2 (Nm). Afterwards, the model was optimized to obtain two formulations: one with best rheological characteristics (925) and another with best nutritional value (719). The sensory evaluation showed an adequate acceptance for the optimal formulations. In the same way the physicochemical analysis showed a better nutritional value, the content of protein and fat was increased, overall the bread was acceptable to the consumer.

Keywords: Mass rheology, Mixolab, whey powder (WPC), transglutaminase, cellulase, xylanase, bread.

Tabla de Contenido

1.	IN	FRODUCCIÓN	10
1	.1.	Antecedentes	10
1	.2.	Justificación	14
1	.3.	Objetivo general:	15
1	.3.1.	Objetivos Específicos	15
2.	Ma	teriales y Métodos	16
2	2.1.	Materia prima	16
	2.1.	.1. Suero de leche	16
	2.1.	2. Enzimas	16
	2.1.	.3. Harina de trigo	16
2	2.2.	Diseño experimental	16
2	2.3.	Caracterización de las masas utilizando el Mixolab	18
2	2.4.	Optimización	18
2	2.5.	Elaboración del Pan	18
2	2.6.	Caracterización de pan	19
2	2.7.	Evaluación Sensorial	19
2	2.8.	Análisis Estadístico	20
3.	Res	sultados y Discusión	21
3	3.1.	Caracterización de las masas	21
	3.1.	.1. Análisis reológicos con Mixolab	21
	3.1.	.1.1. Absorción de Agua (%)	24
	3.1.	.1.2. Estabilidad (min)	25
	3.1.	.1.3. Tiempo de desarrollo o DDT (min)	25
	3.1.	.1.4. Debilitamiento de proteínas o C2-C1 (Nm)	26
	3.1.	.1.5. Tasa de gelatinización del almidón o C3-C2 (Nm)	27
3	3.2.	Optimización	29
3	3.3.	pH de las masas	30
3	3.4.	Actividad de agua (aw)	32
3	3.5.	Volumen Específico (cm³/g)	32
3	3.6.	Evaluación Sensorial	33
3	3.7.	Análisis proximal	34
4.	Cor	nclusiones	36
5.	Rec	comendaciones	36
6.	Bib	oliografía	37
7.	An	exos	42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valores utilizados en el DCC	17
Tabla 2. Diseño Central Compuesto con 2 variables de respuesta suero de leche en polvo	
(WPC 80) y enzimas con el nivel codificado y el nivel real en las premezclas con la harina	. 17
Tabla 3. Métodos utilizados en la determinación fisicoquímica de los panes.	19
Tabla 4. Modelos matemáticos de las variables de respuesta para el análisis reológico	21
Tabla 5. Resultados análisis de Mixolab	.22
Tabla 6. Función de deseabilidad utilizada en las formulaciones optimizadas.	30
Tabla 7. pH, actividad de agua, volumen específico para los tratamientos optimizados y el	
control.	.31
Tabla 8. Resultados de evaluación sensorial.	.34
Tabla 9. Análisis proximal para cada una de las formulaciones	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reacción de enzima transglutaminasa. Recuperado de (Whitehurst & Van Oort, 2010)
11
Figura 2. Mecanismo de acción de las xilanasa. Recuperado de Tobar (2015)12
Figura 3. Mecanismo de descomposición de celulosa Recuperado de: Whitehurst & Van Oort
(2010)
Figura 4. Superficies de respuesta para absorción de agua (a), Estabilidad (b), tiempo de
desarrollo (c), C2-C1 (d), C3-C2 (e)
Figura 5. Panes obtenidos: (a) Formulación 876 control; (b) formulación 925 con mejores
características reológicas y (c) formulación 719 con mayor cantidad de WPC30

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

El suero de leche representa el 20% de las proteínas totales de la leche, entre las principales proteínas se pueden citar la alfa-lactoalbúmina (20%) y beta-lactoglobulina (50%). Estas comprenden un 70% de las proteínas del suero de leche (Nishanthi, et al. 2017; Rebouillat, & Ortega-Requena, 2015). Estas proteínas atribuyen características emulsionantes, emulsificantes, espumantes y capacidad de gelificación en productos alimenticios (Rebouillat, & Ortega-Requena, 2015). Representado al 10% de proteínas en el suero se encuentran la albúmina de suero de bovino y la inmunoglobulina; pero existen proteínas menos abundantes que son lactoferrina, lactoperoxidasa, lisozima, entre las más representativas (Mollea, et al. 2013). El concentrado de proteína de suero o WPC se obtiene mediante la ultrafiltración y se llega a obtener un 30 a 85 % de proteína con las mismas proporciones mencionadas anteriormente (Foegeding, Luck, & Vardhanabhuti, 2011 citado por Jiang, et al., 2018).

La β-lactoglobulina, que es la proteína presente en mayor cantidad, posee una cadena de 162 aminoácidos (Elzoghby, et al, 2015). Los aminoácidos esenciales presentes en esta proteína son treonina, valina, isoleucina, leucina, triptófano y lisina que abarca aproximadamente 45% del total de aminoácidos presentes (Özer & Öner, 2017).

La α-lactoalbúmina, es la segunda proteína que se encuentra en mayor proporción en el suero concentrado, se encuentra formada por 123 aminoácidos (Mollea, et al. 2013). Es importante en la producción de leche por la formación de lactosa. Además, esta proteína posee en su estructura una gran variedad de aminoácidos esenciales, es rica en triptófano, lisina, cisteína y aminoácidos de cadena ramificada o BCAA (Layman, et al., 2018). Los aminoácidos de cadena ramificada presentes son, isoleucina, leucina y valina los cuales juegan un papel

importante en el anabolismo de proteínas miofibrilares del músculo y son precursores directos de la producción de energía y recuperación muscular (Cribb, 2008).

El suero de leche puede ser aprovechado como concentrado de proteína o WPC en distintos tipos de alimentos como panificación, fórmulas infantiles o para incrementar el valor nutricional de productos (Jiang, et al., 2018).

La enzima transglutaminasa, es muy utilizada en la industria de panificación, ya que ayuda a tener mejores características en el pan como: mejor estructura de miga, firmeza, aumento de volumen específico e incremento de capacidad de retención de agua (Boukid et al., 2018). El funcionamiento del mecanismo de acción radica en catalizar la transferencia de un grupo acilo al introducir enlaces covalentes entre proteínas (Figura 1). Específicamente, al generar enlaces entre residuos de lisina con residuos de β-carboxyamina presente en la glutamina; de esta manera fortifican la estructura de la red de gluten, con la formación de redes poliméricas extensas (Seravalli, et al., 2011; Scarnato, et al., 2017).

Figura 1. Reacción de enzima transglutaminasa. Recuperado de (Whitehurst & Van Oort, 2010)

Por otro lado, las enzimas xilanasa y celulasa actúan principalmente en la ruptura de celulosa y xilanos presentes en la harina haciéndolos más pequeños y permitiendo una adecuada solubilidad en la masa. La enzima xilanasa es hidrolítica y rompe los enlaces β-1,4 de arabinoxilanos presentes en la pared celular vegetal formando fracciones solubles de hemicelulosas llamada xilobiosa (Figura 2). Esta reacción permite la incorporación de los polisacáridos en el agua de la masa obteniendo resultados favorables en la firmeza, aumento en el volumen y migas finas distribuidas uniformemente en el pan (Schoenlechner, et al., 2013).

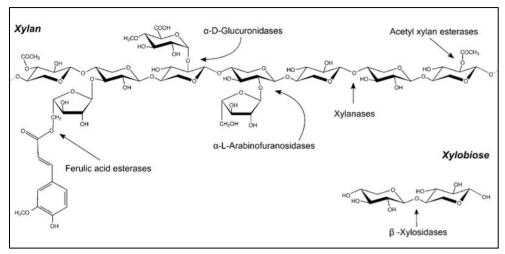


Figura 2. Mecanismo de acción de las xilanasa. Recuperado de Tobar (2015).

La celulasa, es la enzima encargada de trasformar a la celulosa, hidrolizando enlaces B1,4-D-glicosídicos liberando celobiosa. Sin embargo, para la liberación completa de esta enzima es necesario una acción combinada de varias celulasas permiten la obtención de glucosa como resultado final, entre estas tenemos la endocelulasa, rompe cristales de glucosa; exocelulasa, hidroliza hasta obtener unidades de celubiosa; la celobioasa, genera monosacáridos individuales, como muestra en la Figura 3 (Whitehurst & Van Oort, 2010). La fragmentación en nuevos polisacáridos permite un cambio en la retención de agua y mejor capacidad para ligarse en ella, dando como resultado el cambio de la viscosidad junto con el proceso de fermentación (Yurdugul, et al., 2012), ya que la hidrólisis produce liberación de azúcares como pentosas y hexosas disponibles para los microorganismos fermentadores (Martínez, et al. 1999). Además, de que brindan mejores características en el sabor, olor y frescura del pan, como también mejor porosidad de la miga y volumen del pan (Yurdugul, et al., 2012; Haro, et al., 2002). El uso de estas enzimas ayuda a tener mejores características en el producto terminado, realizando cambios en la estructura reológica de la masa, la cual es muy importante para predecir el comportamiento, con el análisis de la deformación o esfuerzo aplicado (Rodríguez, et al., 2012). Es necesario simular todas las operaciones de elaboración del pan para poder determinar cada una de estas propiedades relacionadas con indicadores de calidad.

Uno de los métodos para determinar el comportamiento de la masa es utilizando Mixolab de Chopin, este equipo tiene la capacidad de medir la fuerza requerida para mezclar la masa a velocidad constante.

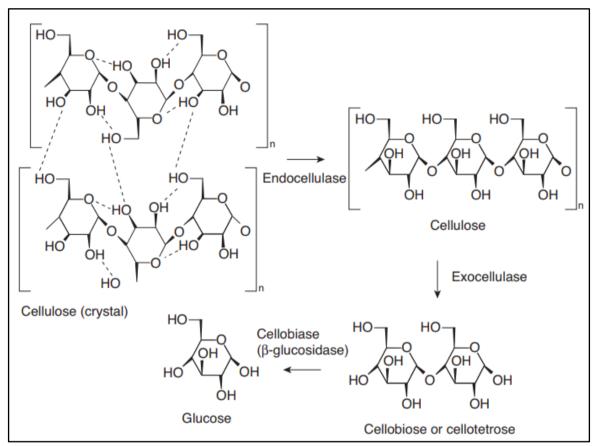


Figura 3. Mecanismo de descomposición de celulosa Recuperado de: Whitehurst & Van Oort (2010).

Además, nos proporciona información relacionada a la cantidad de agua necesaria para llegar a una consistencia de la masa óptima (Gil & Serra, 2015). La gráfica de Mixolab permite distinguir 5 diferentes fases. En la primera fase corresponde a la farinografía donde se puede identificar a la absorción de agua, la estabilidad, y el tiempo de desarrollo; la segunda fase muestra el debilitamiento de las proteínas; la tercera fase se genera la gelatinización del almidón; la cuarta fase nos indica como decrece la consistencia de la masa mientras aumenta la actividad de la alfa amilasa; la última fase se produce una disminución de la temperatura lo

que genera gelificación del almidón y posteriormente retrogradación generando incremento en la consistencia (Codină, et al., 2010).

1.2. Justificación

La industria de alimentos no está utilizando los recursos adecuadamente, pues consume más recursos de los que el planeta puede regenerar (Palmeri, et al., 2017). Es así, como surge la idea de aprovechar al máximo los subproductos generados en el procesamiento de alimentos. Un subproducto desperdiciado es el suero de leche, obtenido a partir de la elaboración de diferentes tipos de quesos y algunos yogures donde se separa el suero líquido. El suero generado en el proceso puede ser dulce o ácido dependiendo del mecanismo con el que se obtuvo. Existen dos vías por las que se obtiene el suero, la primera es utilizando enzimas proteolíticas que actúan con una temperatura específica y un pH de 5.9-6.6, la proteólisis afecta a la caseína de la leche que precipita por su desestabilización, generando el suero dulce. La segunda vía es utilizando un ácido para bajar el pH de la leche (6.5-6.7) y generando precipitación de las caseínas al llegar al punto isoeléctrico que es de 4.5 a 4.6 (Pasmay, 2015).

En la industria quesera a nivel mundial se produce alrededor de 1,6 billones de litros de suero ácido por año (Chandrapala et al., 2015). Es así como diferentes estudios demuestran que las cadenas de suministro de alimentos no son sostenibles por el impacto ambiental que estas generan en el proceso (Palmeri, et al., 2017). En el censo ecuatoriano de Manufactura y Minería 2010, se produjeron 87 mil kilogramos de queso fresco, se conoció que la producción de queso tuvo un rendimiento de alrededor del 9%, es decir que el 91% se desechó como suero lácteo (INEC, 2010; Dalla Costa & Pécora, 2015).

En Ecuador el ganado vacuno se encuentra concentrado en la región sierra, según el Instituto Nacional de Censos (2013), con 50,64% del total del país. Esto se debe a que hay mayor proporción de ganado lechero junto con pastos cultivados. El rendimiento promedio de

producción de leche es 6.46 L/vaca, con lo cual genera el procesamiento de diferentes productos lácteos, informales e industriales. En año 2017, el reporte del índice de producción de la industria manufacturera, muestra un incremento en la producción nacional. La leche y productos lácteos presentaron un incremento del 17.51% en el mes de mayo, obteniendo el cuarto puesto respecto a la mayor incidencia en el aumento de la sección productos alimenticios, bebidas y tabaco con un aporte del 0.2668 % (INEC, 2017). Este aumento de producción representó mayor cantidad de suero de leche generado principalmente en la elaboración de queso, considerado como un desperdicio para el artesano y la pequeña industria, que pudiera ser utilizado gracias a su gran valor biológico y propiedades fisicoquímicas de sus componentes.

1.3. Objetivo general:

Analizar el comportamiento reológico de la masa de pan de molde, mediante el uso de Mixolab para evaluar la influencia del suero de leche en polvo concentrado y las enzimas transglutaminasa, xilanasa y celulasa.

1.3.1. Objetivos Específicos

- Optimizar a los tratamientos usando metodología de superficie de respuesta (MSR) al modificar el porcentaje de enzimas y suero lácteo en las masas pan de molde.
- Realizar un análisis sensorial con los tratamientos óptimos y evaluar las características organolépticas del pan de molde.
- Caracterizar fisicoquímicamente las formulaciones óptimas.

2. Materiales y Métodos

2.1. Materia prima

2.1.1. Suero de leche

Se utilizó suero de leche en polvo, el cual está concentrado en un 80% que fue donado por la empresa AGROPUR, con el nombre de WPC 80, especificando que contiene: proteína, 78g/100g; grasa, 6.9g/100g; carbohidratos, 4.5g/100g; sal, 0.33g/100g.

2.1.2. Enzimas

Las enzimas que se adquirieron en la empresa GRANOTEC, con el nombre comercial de VERON HF, compuesta por una mezcla de enzimas celulasa, xilanasa y transglutaminasa que ayudan con una mejor formación de la red de gluten, generan buena estabilidad en el proceso de fermentación de la masa y aumenta el volumen del pan, según especifica el fabricante.

2.1.3. Harina de trigo

La harina que se utilizó es específicamente destinada para panificación proporcionada por la empresa "La Moderna S.A." con las siguientes especificaciones: 13.6% de humedad, 0.72% de cenizas, 36.5% de gluten húmedo, 12.1% de gluten seco, 94% de gluten index y 345 s de Falling Number.

2.2. Diseño experimental

Se realizó un diseño central compuesto (DCC) con arreglo factorial 2². Los factores de estudio fueron: suero de leche en polvo concentrado al 80%, WPC 80 (0-10 %) y enzimas (0-150 ppm), cada uno de estos tratamientos se mezclaron homogéneamente junto con la harina y

demás ingredientes secos (Tabla 1). El DCC, contó con 4 tratamientos factoriales, 4 axiales (alfa) y 4 centrales (Tabla 2).

Tabla 1. Valores utilizados en el DCC

Variables	(-1.41)	(-1)	0	(+1)	(+1.41)
WPC (%)	0	1.46	5	8.54	10
Enzimas (ppm)	0	21.966	75	128.034	150

Tabla 2. Diseño Central Compuesto con 2 variables de respuesta suero de leche en polvo (WPC 80) y enzimas con el nivel codificado y el nivel real en las premezclas con la harina.

	Nivel co	odificado	Nivel real		
Tratamientos -	WPC (%)	Enzima (ppm)	WPC (%)	Enzima (ppm)	
1	(-1)	(-1)	1.5	22	
2	(+1)	(-1)	8.5	22	
3	(-1)	(+1)	1.5	128	
4	(+1)	(+1)	8.5	128	
5	(-1.41)	0	0	75	
6	(+1.41)	0	10	75	
7	0	(-1.41)	5	0	
8	0	(+1.41)	5	150	
9	0	0	5	75	
10	0	0	5	75	
11	0	0	5	75	
12	0	0	5	75	

2.3. Caracterización de las masas utilizando el Mixolab

Se realizó un análisis de Reológico con Mixolab que analiza el comportamiento de la masa durante la formación, utilizando el protocolo 54-60.01 descrito por la AACCI (2010). Los parámetros analizados fueron absorción de agua (%), tiempo de desarrollo (min), estabilidad (min), C1 (Nm) o torque máximo para formar gluten, C2 (Nm) o debilitamiento de las proteínas considerando incremento de temperatura y trabajo mecánico, C3 (Nm) o gelatinización del almidón, C4 (Nm) o la estabilidad del almidón, C5 (Nm) o tendencia de la retrogradación del almidón con un descenso de temperatura. También se tomó en cuenta la diferencia entre los puntos C2-C1 (Nm) relacionada con la calidad de la red de proteínas, C3-C2 (Nm) que se relaciona con la velocidad de gelatinización, C4-C3 (Nm) que se relaciona con la acción de la enzima amilasa y C5-C4 (Nm) que indica la retrogradación del almidón en la etapa de enfriamiento. Además de las pendientes α, β, y γ.

2.4. Optimización

Para la optimización se utilizó la función de deseabilidad utilizando el software Design Expert. Se asignaron objetivos y valores de importancia a cada una de las respuestas que presentaron modelos matemáticos y superficie de respuesta. A partir de los resultados obtenidos, se seleccionó dos formulaciones óptimas para continuar con los análisis posteriores.

2.5. Elaboración del Pan

Se elaboró el pan utilizando la metodología de masa sin tiempo, donde se incorporaron todos los ingredientes en la mezcladora, colocando primero el agua (cantidad obtenida del análisis del Mixolab), incorporando luego la harina de trigo (100%) previamente mezclada con las enzimas (cantidad obtenida de la optimización) y con el WPC (cantidad obtenida

de la optimización), después se colocó la levadura fresca (4%), el azúcar (5%), grasa (5%) y la sal (2%). Se mezcló durante 7 minutos hasta obtener un desarrollo adecuado del gluten. Posteriormente, se fraccionó a la masa en porciones de 420 g, se boleó, formó y colocó en moldes previamente engrasados. Se llevó a fermentación controlada a 38 °C, y con una humedad relativa de 80 %, por un tiempo de 50 minutos. Finalmente, se horneó a 170 °C por 19 minutos.

2.6. Caracterización de pan

Los panes y masas obtenidos fueron analizados siguiendo cada una de las metodologías descritas en la Tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la determinación fisicoquímica de los panes.

Determinación Fisicoquímica	Método
Actividad de agua (a _w)	Mediante Equipo Hypalm
pH en la masa antes y después de la fermentación	Mediante un potenciómetro (AACC, 2017)
Humedad	Estufa 44.15.02 (AACC, 2017)
Volumen específico	55-50.01 (AACC, 2017)
Grasa	Soxhlet 920.39 (AOAC, 2012)
Proteína	Kjehdahl 991.20 (AOAC, 2012)
Cenizas	Mufla (AOAC, 2012)
Carbohidratos	Por diferencia

2.7. Evaluación Sensorial

Se aplicó una prueba afectiva de aceptación utilizando una escala hedónica de 9 puntos, donde el número 9 significó "me gusta muchísimo" y 1 "me disgusta muchísimo". Los atributos que se evaluaron fueron: sabor, apariencia, olor, suavidad y aceptación global. Esta prueba se realizó con 3 formulaciones: la formulación óptima (mejor tratamiento

obtenido en el DCC) y la formulación que presentaba el mayor contenido de WPC, además de un control, al cual no se adicionó WPC ni enzimas. La prueba se efectuó con 70 jueces no entrenados o consumidores, en el aula de evaluación sensorial de la Universidad San Francisco de Quito. Cada una de las muestras se codificó de la siguiente manera: 925 a la formulación con mejores características reológicas, 719 a la formulación con mayor porcentaje de WPC y 876 al control. Posteriormente, se colocó de manera aleatorizada en bandejas, considerando la cantidad adecuada de cada muestra es decir una rebanada de pan de 1 cm de espesor, dividida por la mitad para tener muestras homogéneas (Chauvin, Younce, Ross, & Swanson, 2008).

2.8. Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos en el DCC, se analizaron mediante el método de Superficie de Repuesta, donde se obtuvieron coeficientes de regresión para obtener modelos matemáticos, de las respuestas que presentaron un ANOVA con significancia de 0.05 y un R² de mínimo 0.80. El análisis se lo realizó utilizando el software Statistica 7.0. Luego se utilizó la función de deseabilidad para obtener un tratamiento con las mejores características reológicas y otro para obtener una formulación con la mayor cantidad posible de WPC. La optimización se la realizó utilizando el software Design Expert.

Los resultados de los tratamientos optimizados fueron analizados mediante un análisis de varianza simple (α=0.05) y en caso de existir diferencias significativas se procedió a ejecutar un test de comparación de medias (Test de Tukey con nivel de significancia del 5%). Los resultados de la evaluación sensorial fueron analizados utilizándose un diseño aleatorio completamente balanceado con bloqueo en jueces y luego se compararon las medias con el test te Tukey con un 95% de confianza.

3. Resultados y Discusión

3.1. Caracterización de las masas

3.1.1. Análisis reológicos con Mixolab

Se analizaron cada uno de los parámetros proporcionados por Mixolab los cuales se muestran en la Tabla 5. Cada una de las curvas de Mixolab para los diferentes tratamientos analizados se muestran en el Anexo 1. Posteriormente, el uso del análisis estadístico permitió ver la influencia de WPC y de enzimas en cada una de las variables de respuesta. Se obtuvo modelos matemáticos (Tabla 4) en donde se presentó influencia significativa, por las variables independientes las cuales permitieron modelar el comportamiento con superficies para cada una de las variables (Figura 4). Se eligió un R² ajustado fue mayor a 0.80 en las variables de respuesta.

Tabla 4. Modelos matemáticos de las variables de respuesta para el análisis reológico

Variables de Respuesta	Modelos Matemáticos	R ² ajustado
Absorción de agua (%)	$= 64.41 - 2.695x_1 + 1.68x_1^2 + 0.68x_2$	0.9820
Estabilidad (min)	$= 8.08 - 1.885 x_1 - 0.61 x_1^2$	0.9519
Tiempo de Desarrollo (min)	$= 6.16 + 0.21x_1 + 0.36x_1^2 + 0.168x_2 + 0.11x_2^2$	0.8155
C2-C1 (Nm)	$= 0.74 + 0.044x_1$	0.8346
C2-C3 (Nm)	$= 0.993 + 0.098x_1$	0.9809

 x_1 suero de leche en polvo concentrado (%): WPC; x_2 Enzimas (ppm).

Tabla 5. Resultados análisis de Mixolab

Tratamientos	Absorción de agua (%)	Estabilidad (min)	Tiempo de Desarrollo (min)	C1 (Nm)	C2 (Nm)	C3 (Nm)
1	66.70 ± 0.000	9.10 ± 0.071	7.03 ± 0.035	1.13 ± 0.006	0.43 ± 0.001	1.33 ± 0.000
2	67.20 ± 0.071	9.05 ± 0.071	6.46 ± 0.120	1.10 ± 0.028	0.42 ± 0.008	1.31 ± 0.019
3	62.80 ± 0.000	5.45 ± 0.000	6.72 ± 0.516	1.07 ± 0.000	0.29 ± 0.000	1.39 ± 0.011
4	63.30 ± 0.000	5.15 ± 0.071	6.74 ± 0.233	1.06 ± 0.017	0.30 ± 0.014	1.38 ± 0.004
5	70.90 ± 0.000	9.70 ± 0.141	5.39 ± 0.898	1.13 ± 0.003	0.47 ± 0.011	1.33 ± 0.002
6	61.20 ± 0.000	4.60 ± 0.071	6.14 ± 0.226	1.09 ± 0.007	0.29 ± 0.001	1.41 ± 0.002
7	63.60 ± 0.000	8.45 ± 0.000	6.17 ± 0.163	1.13 ± 0.017	0.37 ± 0.016	1.38 ± 0.018
8	63.80 ± 0.000	8.05 ± 0.071	6.46 ± 0.339	1.13 ± 0.009	0.35 ± 0.005	1.35 ± 0.008
9	62.00 ± 0.000	8.70 ± 0.566	6.04 ± 0.198	1.11 ± 0.003	0.35 ± 0.008	1.35 ± 0.002
10	63.26 ± 0.000	7.70 ± 0.424	6.42 ± 0.212	1.09 ± 0.010	0.35 ± 0.008	1.33 ± 0.010
11	63.26 ± 0.000	8.10 ± 0.000	7.12 ± 0.474	1.08 ± 0.021	0.35 ± 0.002	1.34 ± 0.006
12	61.05 ± 0.000	8.05 ± 0.495	5.68 ± 0.714	1.07 ± 0.002	0.34 ± 0.002	1.31 ± 0.008
	C4 (Nm)	C5 (Nm)	C2-C1 (Nm)	C3-C2 (Nm)	C4-C3 (Nm)	C5-C4 (Nm)
1	1.15 ± 0.010	1.75 ± 0.029	0.70 ± 0.005	0.90 ± 0.001	0.17 ± 0.010	0.60 ± 0.019
2 3	1.12 ± 0.006	1.66 ± 0.028	0.69 ± 0.020	0.89 ± 0.011	0.19 ± 0.013	0.55 ± 0.023
3	1.11 ± 0.016	1.64 ± 0.068	0.78 ± 0.000	1.10 ± 0.011	0.28 ± 0.004	0.53 ± 0.052
4	1.08 ± 0.003	1.59 ± 0.001	0.77 ± 0.003	1.08 ± 0.018	0.30 ± 0.001	0.51 ± 0.001
5	1.14 ± 0.037	1.69 ± 0.001	0.66 ± 0.014	0.86 ± 0.013	0.20 ± 0.035	0.56 ± 0.038
6	1.19 ± 0.006	1.75 ± 0.025	0.80 ± 0.008	1.14 ± 0.003	0.24 ± 0.004	0.56 ± 0.019
7	1.15 ± 0.066	1.71 ± 0.166	0.76 ± 0.001	1.01 ± 0.002	0.23 ± 0.047	0.56 ± 0.100
8	1.10 ± 0.007	1.67 ± 0.040	0.78 ± 0.004	1.00 ± 0.003	0.25 ± 0.015	0.57 ± 0.033
9	1.13 ± 0.004	1.65 ± 0.002	0.76 ± 0.011	1.00 ± 0.006	0.22 ± 0.002	0.52 ± 0.006
10	1.08 ± 0.013	1.63 ± 0.016	0.74 ± 0.001	0.98 ± 0.001	0.25 ± 0.023	0.55 ± 0.029
11	1.12 ± 0.037	1.66 ± 0.089	0.73 ± 0.019	0.99 ± 0.004	0.22 ± 0.031	0.54 ± 0.052
12	1.03 ± 0.011	1.53 ± 0.008	0.73 ± 0.000	0.97 ± 0.006	0.28 ± 0.002	0.50 ± 0.018

Valores medios ± desviación estándar. Muestras realizadas por duplicado.

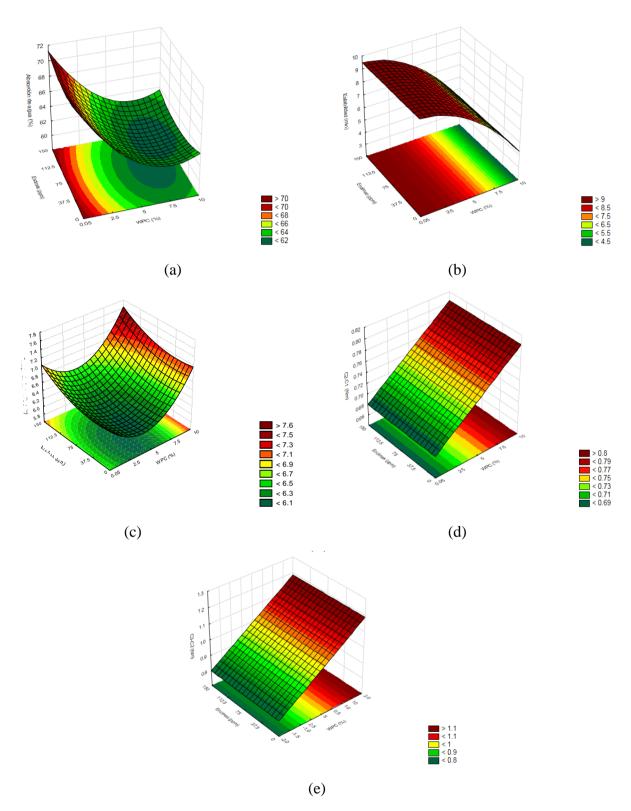


Figura 4. Superficies de respuesta para absorción de agua (a), Estabilidad (b), tiempo de desarrollo (c), C2-C1 (d), C3-C2 (e).

3.1.1.1. Absorción de Agua (%)

La absorción de agua dentro de la mezcla indica la cantidad necesaria para tener un correcto desarrollo del gluten (Dhaka, Gulia, & Khatkar, 2012). El modelo matemático obtenido para la absorción de agua (Tabla 4), presenta una ecuación cuadrática positiva atribuida a la variable de WPC, es decir, que cuando se adiciona mayor cantidad de concentrado de suero de leche en polvo, la absorción de agua disminuye hasta el punto de inflexión y luego aumenta. Adicionalmente se observó una acción baja por parte de las enzimas añadidas, ya que presentan un coeficiente de regresión de menor magnitud dentro de la ecuación. En la Figura 4 (a), es posible visualizar la baja acción que tienen las enzimas sobre la absorción de agua; sin embargo, la adición de WPC cambia conforme se incrementa su concentración. A porcentajes bajos WPC se obtiene valores mayores al 70% de absorción, a diferencia de porcentajes mayores en donde se obtiene resultados menores al 62%. Resultados similares se obtuvieron por Indrani, et al (2007), que utilizaron diferentes niveles de WPC en un rango de 0 a 15% en pan sin levadura, donde se evidenció disminución de absorción de agua al reemplazar harina de trigo por el concentrado proteico.

De igual manera, en otro estudio donde se adicionó dos subproductos lácteos WPC y suero de mantequilla en polvo, los autores evidenciaron la misma tendencia en los resultados. En este caso utilizaron niveles de 0, 4 y 8% de sustitución, los cuales disminuyeron la absorción de agua en la mezcla (Madenci, & Bilgiçli, 2014).

Las enzimas adicionadas, celulasa, xilanasa y transglutaminasa presentaron un efecto lineal bajo, como es posible visualizarlo en el modelo matemático (Tabla 4 y Figura 4 a), donde se observa que el aumento de su concentración no muestra cambios notorios en la superficie.

3.1.1.2. Estabilidad (min)

Los parámetros de estabilidad y el tiempo de desarrollo se relacionan con el desarrollo de la masa, que implica tener una adecuada formación del gluten a partir de la hidratación de la harina más la fuerza mecánica que hace que las moléculas de proteínas se desarrollen para poder formar uniones con enlaces entrecruzados dando origen a la red de gluten (Rosentrater & Evers 2018). Específicamente, la estabilidad nos indica la resistencia en el proceso de amasado (Krawczyk et al., 2008). El modelo matemático que se obtuvo indica que hay solo influencia de la variable WPC obteniendo una ecuación de segundo orden negativa (Tabla 4). La Figura 4 (b) muestra que la variable WPC tuvo una influencia negativa dentro de la respuesta estabilidad; es decir, mientras aumenta la cantidad de suero WPC disminuye la estabilidad. Además, se observa que a valores bajos de WPC existe un tiempo de estabilidad mayor a 9 min y a valores altos presenta un tiempo de estabilidad menor a 4.5 min. Esto se relaciona principalmente con el WPC porque tiene presente proteínas las cuales, diluyen el gluten impidiendo la formación normal de enlaces disulfuro en el desarrollo de la masa. Por este motivo se obtienen masas más extensibles y con muy poca elasticidad (Indrani, et al., 2007).

3.1.1.3. Tiempo de desarrollo o DDT (min)

El tiempo de desarrollo, es el tiempo en el cual se llega al óptimo desarrollo del gluten, específicamente el máximo torque a 30°C (Dubat, Rosell & Gallagher, 2013). El modelo matemático que se obtuvo para DDT fue uno de segundo orden (Tabla 4). La ecuación obtenida a partir del DCC muestra que existe influencia de ambas variables. Se identifica que el WPC y las enzimas presentan variables lineales y cuadráticas que son significativas en el modelo. Como se puede ver en la Figura 4 (c). A medida que aumenta el porcentaje de WPC incrementa el tiempo de desarrollo, de igual manera se aprecia para el caso de las enzimas. Sin embargo, existe una mayor influencia por parte del WPC. Esto se evidencia pues a una concentración del

10% se obtiene un tiempo mayor a 7.6 min, en el caso de las enzimas a un valor de 150 ppm el tiempo es menor a 7.1 min. Esto podría ser a causa de la cantidad de aminoácidos presentes en la proteína de WPC, pues estas impiden la formación de los enlaces SH a SS, evitando la formación de cadenas polipeptídicas que forman el gluten, de esta manera incrementa el tiempo de desarrollo (Rosentrater & Evers, 2018).

3.1.1.4. Debilitamiento de proteínas o C2-C1 (Nm)

Este parámetro muestra el comportamiento de las proteínas, pues existe un cambio de temperatura de 30 hasta 50 °C, aquí la red proteica que se formó hasta llegar a C1 (torque de 1.1 Nm) se encuentra muy dispersa produciendo aglomeraciones. Esto es a causa del almidón que incrementa su tamaño por el aumento de temperatura, pero no llega a gelatinizarse. De esta manera impide tener una distribución adecuada de la matriz proteica envolviendo a menos gránulos de almidón. Una vez que la temperatura está en 45 °C se inicia un proceso inversión de la aglomeración rompiendo a la estructura. Esto da origen a una masa más blanda y simula la puesta en el horno (CHOPIN, 2012). El modelo matemático que se obtuvo para C2-C1, es una ecuación de primer orden (Tabla 4). En la Figura 4 (d) se observa una superficie lineal, atribuido al WPC. Al adicionar WPC aumenta la diferencia C2-C1 debilitando a la red de gluten formada, pues como se mencionó anteriormente impide la formación de los enlaces entre las proteínas formadoras del gluten. Además, la enzima transglutaminasa no logra formar enlaces entre proteínas del WPC y las presentes en la harina, es decir no pudo formar enlaces covalentes entre los aminoácidos (Seravalli, et al., 2011). Las proteínas presentes en la harina son importantes dentro de la panificación, pues es necesario tener una concentración y cantidad de proteína adecuada; por ejemplo, para elaborar pan se utiliza harina de trigo duro con 12 a 14% de proteína (Delcour & Hoseney, 2010), pues estas van a formar la red de gluten para obtener un producto final adecuado. Además, si el parámetro C2 tiene un valor elevado quiere decir que la calidad de las proteínas es alta (Aprodu, et al. 2010).

3.1.1.5. Tasa de gelatinización del almidón o C3-C2 (Nm)

En este parámetro ocurre la gelatinización del almidón, generando la pérdida de su estructura y como consecuencia se presencia un incremento de la viscosidad en la mezcla. Además. el almidón se encuentra en diferente tamaño influyendo en la velocidad de gelatinización pues, los gránulos más pequeños se gelatinizan por completo, mientras que los de mayor tamaño, parcialmente (CHOPIN, 2012). El modelo matemático obtenido para la respuesta de gelatinización del almidón fue de primer orden (Tabla 4). En este modelo también existió solo influencia del WPC identificando a una superficie lineal (Figura 4 e). El WPC tuvo un coeficiente de regresión positivo para la respuesta, es decir, que mientras incrementa su porcentaje la tasa de gelatinización va a aumentar. En concentración alta de WPC se obtiene una consistencia mayor de 1.1 Nm, sin embargo, al disminuir la concentración los valores son < 0.8 Nm. Esto pudo suceder porque las proteínas presentes en el WPC se van a desnaturalizar y liberan agua, la cual es utilizada por el almidón para poder gelatinizarse e induce una mayor consistencia en la masa (Aprodu, et al. 2010). Dentro de la panificación es importante la gelatinización del almidón, porque va a ser responsable de dar estructura al pan pues toma el control de las membranas de proteína formadas que retuvieron gas (Cauvain, 2015).

Dentro del estudio de los modelos matemáticos se puede observar que las enzimas añadidas tuvieron una menor influencia o ninguna dentro de las variables de respuesta analizadas. La razón fue principalmente porque no estuvieron en condiciones óptimas de pH y temperatura, teniendo una menor acción. Esto se puede apreciar en diferentes curvas para cada una de las enzimas donde se muestra el porcentaje de actividad vs pH y temperatura, las cuales fueron proporcionadas por el fabricante AB Enzymes.

La transglutaminasa tiene una actividad óptima en un pH neutro de 7 donde posee una actividad del 100%; sin embargo, al pH de las masas analizadas promedio es de aproximadamente 5.6 donde la actividad se reduce en un 10%. Además, la temperatura óptima

de acción es a 50°C. La fase inicial del análisis reológico, la masa se encontró a una temperatura mayor a 30 °C, pero menor a 35 °C por un tiempo de 8 minutos, es este rango de temperatura se identifica una acción enzimática menor del 60%. Según, Vergara (2011) el tiempo ideal para tener una adecuada acción de la transglutaminasa en pan a base de harina de quinoa es de 30 minutos pues en este tiempo se presentó mayor dureza, lo cual explica tener mayor entrecruzamiento enzimático.

Ahora en el caso de la xilanasas son provenientes de *Aspergillus spp.*, presentan un pH y temperatura óptimos de 3,5-4 y 50 °C, respectivamente. No obstante, a una temperatura entre 30-35 °C se presenta una actividad de entre el 40 a 50%. Por esta razón se puede ver porque estas enzimas tampoco actuaron adecuadamente porque a un pH mayor a 5.5 la acción es del 20%. Hay que considerar también el origen de estas enzimas pues pueden ser bacteriano (*Bacillus*), fúngico (*Aspergillus, Trichoderma*), influyen en cómo se van a comportar, las enzimas provenientes de bacterias pueden desdoblar a los arabinoxilanos solubles en agua, a diferencia de las que son obtenidas a partir de Aspergillus las cuales, usan como sustrato a arabinoxilanos insolubles en agua. Todas estas variedades de xilanasas se utilizan en dosis parecidas, pero tienen un efecto diferente en la masa, funcionado de acuerdo a las circunstancias, por lo tanto, es necesario establecer condiciones óptimas y mezclas a base de prueba y error (Whitehurst & Van Oort, 2010).

En el caso de la celulasa, el valor de temperatura adecuado es de 60 a 65 °C y pH de 5 a 5.5, para una actividad óptima. Sin embargo, las condiciones a las que se desarrolló el gluten en el Mixolab, no fueron las adecuadas al estar entre 30 a 35 °C donde la actividad se reduce considerablemente a un 20-30%.

Para terminar, en todas las demás variables de respuesta analizadas no existió influencia significativa (p>0.05) por parte del WPC y enzimas adicionadas y no se obtuvo modelos

matemáticos que permitan la modelación de las superficies. Estas fueron: C1 (Nm) o torque máximo para formar gluten C2 o debilitamiento de las proteínas (Nm), C3 o gelatinización del almidón (Nm), C4 o la estabilidad del almidón (Nm), C5 o tendencia de la retrogradación del almidón (Nm), C4-C3 o la acción de la enzima amilasa (Nm) y C5-C4 (Nm) que indica la retrogradación del almidón en la etapa de enfriamiento.

3.2. Optimización

Para realizar la optimización se utilizó la función de deseabilidad del software Design Expert. Los parámetros utilizados en la optimización se muestran en la Tabla 6. A cada una de las variables se les asignó una importancia numérica (1-5) y un objetivo (maximizar, minimizar o en rango) acorde a la optimización de los tratamientos aplicados. La importancia estuvo entre el rango de 1 a 5, siendo 1 el de menor importancia y 5 el de mayor. Se optimizaron dos formulaciones donde se maximizó diferentes variables. En la primera (719), se maximizó solo a la variable WPC manteniendo a los demás parámetros en rango, para alcanzar un mejor valor nutricional. Para la segunda (925), se maximizó la absorción de agua (%), estabilidad (min), tiempo de desarrollo (min), C2 (Nm), C3-C2 (Nm), se minimizó C2-C1 (min) y las demás variables se mantuvieron en rango, para obtener mejores características reológicas en la masa.

Los resultados obtenidos para formulación 925 fueron: WPC 1.92% y enzimas 150 ppm, en cambio en la formulación 719, WPC 9.72% y enzimas 19.31 ppm. Los panes obtenidos con cada formulación se muestran en la Figura 5. Además, se elaboró un pan control, al cual se le asignó la numeración 876. Con estas tres formulaciones se realizó el análisis sensorial y posteriormente los análisis fisicoquímicos

0.53

0		mización para 7	zación para 719		Optimización para 925		
Parámetro	Objetivo	Importancia	Solución	Objetivo	Importancia	Solución	
WPC	Maximizar	5	1.33	En rango	3	-0.869	
Enzimas	En rango	3	-1.05	En rango	3	1.41	
Absorción de agua	En rango	3	62.7	Maximizar	5	67.7	
Estabilidad	En rango	3	4.70	Maximizar	5	9.04	
Tiempo de desarrollo	En rango	3	7.03	Maximizar	3	6.70	
C1	En rango	3	1.10	En rango	3	1.10	
C2	En rango	3	0.286	Maximizar	5	0.413	
C3	En rango	3	1.43	En rango	3	1.32	
C4	En rango	3	1.12	En rango	3	1.12	
C5	En rango	3	1.66	En rango	3	1.66	
C2-C1	En rango	3	0.801	Minimizar	5	0.703	
C3-C2	En rango	3	1.13	Maximizar	5	0.900	
C4-C3	En rango	3	0.270	En rango	3	0.217	
C5-C4	En rango	3	0.545	En rango	3	0.545	
Deseabilidad			0.07		·	0.53	

0.97

Tabla 6. Función de deseabilidad utilizada en las formulaciones optimizadas.

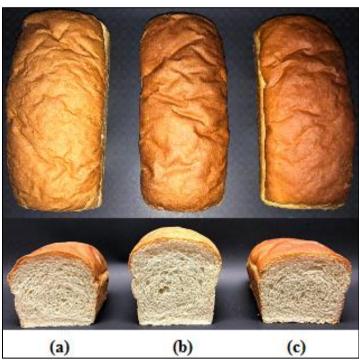


Figura 5. Panes obtenidos: (a) Formulación 876 control; (b) formulación 925 con mejores características reológicas y (c) formulación 719 con mayor cantidad de WPC.

3.3. pH de las masas

total

Los resultados obtenidos para el análisis de pH, tanto de la masa antes y después de la fermentación, se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. pH, actividad de agua, volumen específico para los tratamientos optimizados y el control.

		F	Resultado obtenido				
		876^1 925^2 719^3					
ъU	Antes de fermentación	$5,64 \pm 0,010^{b}$	$5,64 \pm 0,000^{b}$	$5,73 \pm 0,000^{a}$			
pН	Después de fermentación	$5,48 \pm 0,140^{b}$	$5,54 \pm 0,000^{ab}$	$5,57 \pm 0,020^{a}$			
	Actividad de agua (aw)	0.956 ± 0.001^{a}	0.962 ± 0.001^{a}	0.941 ± 0.005^{b}			
	Volumen específico (cm³/g)	en específico (cm ³ /g) 5.07 ± 0.010^{ab} 5.38 ± 0.030^{a} 4.55 ± 0.280^{a}					

Valores medios \pm desviación estándar (n = 2). Letras distintas en la misma línea indican diferencia significativa entre las muestras Tukey (α = 0.05). Formulación: 1 Control; 2 Mejores características reológicas (WPC: 1.92%; enzimas 150 ppm); 3 Mayor concentración de WPC (WPC: 9.72%; enzimas 19.31 ppm).

El pH es importante dentro de la elaboración de pan, ya que influye principalmente en la actividad de las levaduras y permite controlar el desarrollo de otros microorganismos (Rathnayake, Navaratne & Navaratne, 2018). Los resultados muestran que existen diferencias significativas entre los dos tratamientos optimizados. Es decir, entre el tratamiento con mejores características reológicas y el que posee alta concentración de WPC. El pH ideal para una buena acción de las levaduras debe estar entre un rango de 5.2 a 6. (Nawaratne, 2010). Además, se observó que en todas las formulaciones el pH disminuyó luego de la fermentación, es decir después de 50 min en condiciones controladas. Esto se debe principalmente porque el dióxido de carbono producido por las levaduras logra disolverse en la fase acuosa formando ácido carbónico al cual se le atribuye pH ácido de la masa (Miller, Graf, and Hoseney, 1994 citado por Rathnayake et al., 2018). De igual manera Aplevicz, Ogliari & Sant'Anna (2013) mencionan que conforme avanza el proceso de fermentación el pH de la masa va a disminuir lo cual concuerda con los resultados obtenidos. El descenso de pH también se podría atribuir al WPC porque en su composición contiene lactosa. La levadura utilizada (Saccharomyces cerevisiae) no posee el mecanismo para fermentar la lactosa (Domingues, et al., 2010), sin embargo, en la harina no está exenta de microorganismos. Hay bacterias acido lácticas (BAL), las cuales son muy versátiles respecto a las vías catabólicas, anabólicas y cambios en el entorno.

Estas bacterias principalmente crecen en masas madre, donde se puede identificar mayoritariamente al género *Lactobacillus* (Rollán, et al., 2010).

3.4. Actividad de agua (a_w)

Los resultados obtenidos para la actividad de agua se presentan en la Tabla 7. Se puede definir a la actividad de agua como la relación de presión de vapor de agua del alimento y la presión de vapor del agua pura a la misma temperatura. Además, está relacionada con el crecimiento de los microorganismos (Ayub, et al., 2008). La actividad de agua cambió significativamente entre la formulación 719 y las otras dos formulaciones. Sin embargo, se puede observar que no existió diferencia significativa entre la formulación 876 (control) y 925. Este cambio esta atribuido a la cantidad de WPC añadida dentro de cada uno de las formulaciones, pues la formulación 925 posee una pequeña cantidad, mientras que la 719 una mayor. El WPC, posee gran cantidad de proteínas principalmente lactoalbúmina y lactoglobulina provenientes del suero (Hernández y Vélez, 2014) que poseen gran variedad de aminoácidos. Estas proteínas tienen propiedades de hidratación, entre las cuales destaca la capacidad para ligar agua, esta se relaciona principalmente con la composición de aminoácidos presentes pues, si existe mayor concentración de aminoácidos cargados la hidratación de incrementa (Badui, 2013). Por esta razón, la formulación 719 tuvo una aw de 0.941 comprobando así que los resultados obtenidos son acertados.

3.5. Volumen Específico (cm³/g)

Los resultados obtenidos de volumen específico se presentan en la Tabla 7. Se identificó que existe diferencia significativa entre la formulación 719 con 925 (p<0.05) y no se presentó diferencia significativa entre la 876 y las otras dos formulaciones (p>0.05).

El volumen específico es muy importante dentro de la industria de la panadería. Es considerado como una de las características más importante del pan porque cuantifica el rendimiento de cocción (Maktouf, et al., 2016). Se puede identificar que el tratamiento 925 tuvo un mayor volumen específico (5.38 cm³/g), ya que fue la formulación optimizada para tener las mejores características reológicas. Esto ayudó a que se genere una red de gluten que tuvo la capacidad de retener mayor cantidad de gas (Rathnayake, et al., 2018) producido por las levaduras en el proceso de fermentación. No obstante, la formulación 719 presentó menor volumen (4,55 cm³/g), esto se debe a que la adición de WPC inhibió la hidratación de los gránulos del almidón como también las proteínas del trigo (Zhou, Liu, & Tang, 2018), este último evita que se forme gluten y genera menor retención de gas.

Hay que destacar que las enzimas también influyen en el volumen específico, tal es el caso de la xilanasa que ayuda a mejorar el volumen del pan; sin embargo, cuando existe presencia de una proporción elevada de proteínas presenta un menor efecto. Por ejemplo, en harinas con 11.9% de proteínas solo hay un incremento del 6%, a diferencia de otras con 8.2% de proteína donde se duplica el efecto llegando al 12% (Whitehurst & Van Oort, 2010). Por estos motivos, existió diferencia significativa en las formulaciones 719 y 925 (Figura 5). No obstante, esta formulación no presentó diferencia significativa con el control. Esto se puede atribuir a los lípidos presente en el WPC. Los lípidos presentan una influencia positiva en el volumen, pues tienen la capacidad de formar monocapas lipídicas en la interfase gas/líquido y aumentar la retención de gases (Gan et al. 1995 citado por Maktouf, et al., 2016).

3.6. Evaluación Sensorial

Los resultados obtenidos de la evaluación sensorial se presentan en la Tabla 8. En el caso de la formulación 925 no presentó diferencia significativa con el control (876), excepto en el atributo de suavidad en el cual si fue significativo. Para la formulación 925, todos sus atributos

tienen una media entre 7.16-7.40, que corresponden a una calificación de "me gusta bastante" con excepción del sabor el cual tiene una media de 6.69 correspondiente a "me gusta". En la formulación con mayor contenido de WPC (719), posee todos sus atributos analizados con una media entre 6.04-6.71 la cual corresponde a una calificación de "me gusta". Esto muestra que cada una de las formulaciones optimizadas tiene una aceptación deseable por parte del consumidor.

Tabla 8. Resultados de evaluación sensorial.

	Resultado obtenido (Escala hedónica 1-9)		
Atributo	876 ¹	925^{2}	719^{3}
Olor	7.23 ± 1.52^{a}	7.24 ± 1.47^{a}	6.51 ± 1.63^{b}
Sabor	7.27 ± 1.47^a	6.69 ± 1.42^{a}	6.37 ± 1.31^{b}
Apariencia	7.66 ± 1.34^{a}	7.40 ± 1.37^a	$6.71 \pm 1.57^{\rm b}$
Suavidad	7.79 ± 1.42^{a}	7.16 ± 1.37^{b}	6.04 ± 1.76^{c}
Global	7.64 ± 1.26^{a}	7.31 ± 1.26^{a}	6.63 ± 1.29^{b}

Valores medios \pm desviación estándar (n=70). Letras distintas en la misma línea indican diferencia significativa entre las muestras Tukey (α = 0.05). Formulación: 1 Control; 2 Mejores características reológicas (WPC: 1.92%; enzimas 150 ppm); 3 Mayor concentración de WPC (WPC: 9.72%; enzimas 19.31 ppm).

3.7. Análisis proximal

En la Tabla 9 se presentan los resultados obtenidos para el análisis proximal de las 3 formulaciones. Se puede observar que la grasa junto con la proteína presenta diferencia significativa entre los diferentes tratamientos. Estos cambios están atribuidos a la cantidad de WPC añadida. En el caso de la grasa, la formulación 876 (control), posee menor cantidad de grasa, seguida de la 925 y finalmente la 719 con mayor cantidad de grasa. El WPC utilizado presenta 6.5 g/100g de grasa en su composición. Por esto la formulación con mayor cantidad de WPC posee mayor cantidad de grasa. En consecuencia, la grasa no tendrá una influencia dentro de la vida útil del pan, pues como menciona Cauvain & Young (2011) pocos productos de panadería tiene pocos problemas de rancidez, porque surge primero la aparición de mohos antes de que se manifieste la rancidez oxidativa.

Tabla 9. Análisis proximal para cada una de las formulaciones.

	Resultado obtenido (g/100g)		
Análisis	876 ¹	925 ²	719 ³
Carbohidratos	44.62 ± 1.05^{a}	40.97 ± 1.05^{a}	36.88 ± 0.40^{a}
*Grasa	1.73 ± 0.09^{c}	2.31 ± 0.09^b	3.74 ± 0.02^a
*Proteína	13.6 ± 0.22^{c}	15.14 ± 0.24^{b}	18.97 ± 0.19^{a}
Humedad	38.44 ± 1.92^a	39.83 ± 1.86^{a}	37.86 ± 0.61^a
Cenizas	2.71 ± 0.06^a	2.79 ± 0.01^a	2.78 ± 0.04^a

Valores medios \pm desviación estándar (n=2). Letras distintas en la misma línea indican diferencia significativa entre las muestras Tukey (α = 0.05). Formulación: 1 Control; 2 Mejores características reológicas (WPC: 1.92%; enzimas 150 ppm); 3 Mayor concentración de WPC (WPC: 9.72%; enzimas 19.31 ppm).

Al adicionar WPC, se logró incrementar la cantidad de proteína en las formulaciones 925 y 719. Para el caso de 719, se obtuvo mayor cantidad de proteína por mayor cantidad de WPC añadida. Estas proteínas se caracterizan por contener alta calidad nutricional, son una fuente rica en aminoácidos de cadena ramificada (BCAA) y aminoácidos esenciales (Almeida, et al., 2016). De esta forma fue posible obtener un pan con mejor valor biológico.

Con respecto a la humedad, este parámetro no presentó diferencia significativa entre las muestras y todas las formulaciones cumplen con lo dispuesto en la norma técnica INEN 2945 (2014), donde se menciona que los panes deberían presentar un contenido de humedad entre 20-40%, ya que esto se relaciona con la vida útil, pues el pan es muy susceptible al deterioro por actividad de mohos principalmente *Aspergillus niger, Penicillium expansum* y *Rhizopus nigricans*, entre otros (Gil & Serra, 2015).

4. Conclusiones

- La adición de enzimas transglutaminasa, celulasa y xilanasa no tuvieron efecto significativo en los parámetros reológicos de las masas de pan de molde, sin embargo, la adición de suero de leche en polvo concentrado al 80% si tuvo un efecto significativo ya que disminuyó la absorción de agua y estabilidad. Además, que aumentó el tiempo de desarrollo (DDT), el debilitamiento de las proteínas (C2-C1) y también la tasa de gelatinización del almidón (C3-C4).
- Se logró utilizar la metodología de superficie de respuesta para poder optimizar los tratamientos con diferentes niveles de WPC y enzimas para la obtención de una masa con buenas características reológicas y otra con mejor valor nutricional (alta cantidad de proteína).
- El análisis sensorial reveló que la formulación con mejor valor nutricional tuvo una aceptación global con una media de 6 la cual atribuye un rango de "me gusta" en la escala hedónica de 9 puntos. Por otro lado, la formulación con mejores características reológicas tuvo una media de 7 correspondiente a "me gusta bastante".
- Las formulaciones optimizadas y un control fueron caracterizadas con análisis fisicoquímicos concluyendo que fue posible obtener un pan que posee mejor valor nutricional pues tiene mayor contenido de proteína.

5. Recomendaciones

- Se aconseja realizar un perfil de aminoácidos para cuantificarlos e identificar los que están presentes en el pan con mayor contenido de proteína.
- Se debe considerar mejor los parámetros para la acción efectiva de las enzimas transglutaminasa, xilanasa y celulasa.

6. Bibliografía

- AACCI. (2010) Approved Methods of Analysis. American Association of cereal chemist international, 11th Edition.
- Almeida, C. C., Alvares, T. S., Costa, M. P., & Conte-Junior, C. A. (2016). Protein and amino acid profiles of different whey protein supplements. *Journal of dietary supplements*, 13(3), 313-323.
- AOAC. (1998) Official methods of analysis. Washington D.C: Association of Analytical Chemists.
- Aplevicz, K. S., Ogliari, P. J., & Sant'Anna, E. S. (2013). Influence of fermentation time on characteristics of sourdough bread. *Brazilian journal of pharmaceutical sciences*, 49(2), 233-239.
- Aprodu, J., I. Banu, G. Stoenescu, and V. Ionescu. 2010. Effect of the industrial milling process on the rheological behavior of different types of wheat flour. *St. Cerc. St. CICBIA* 11:429–437
- Ayub, M., Wahab, S., & Durrani, Y. (2003). Effect of water activity (aw), moisture content and total microbial count on the overall quality of bread. *International journal of agriculture and biology*, 5(3), 273-278.
- Bacenetti, J. et al. (2018). Whey protein concentrate (WPC) production: Environmental impact assessment. *Journal off Food Engineering*, 224, 139-147. doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.12.018
- Badui, S. (2013). Química de los Alimentos. Ciudad de México: Person.
- Boukida, F. et al. (2018). Effectiveness of vital gluten and transglutaminase in the improvement of physico-chemical properties of fresh bread LWT *Food Science and Technology*, 92, 465–470. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.059
- Cauvain, S. (2015). Technology of Breadmaking. Springer.
- Cauvain, S. P., & Young, L. S. (2011). The stability and shelf life of bread and other bakery products. *In Food and Beverage Stability and Shelf Life* (pp. 657-682). Woodhead Publishing.
- Chandrapala, J., Duke, M., Gray, S., Zisu, B., Weeks, M., Palmer, M., & Vasiljevic, T. (2015). Properties of acid whey as a function of pH and temperature. *Journal of Dairy Science*, 98(7), 4352-4363. doi:10.3168/jds.2015-9435

- Chauvin, M. A., Younce, F., Ross, C., & Swanson, B. (2008). Standard scales for crispness, crackliness and crunchiness in dry and wet foods: relationship with acoustical determinations. *Journal of Texture Studies*, 39(4), 345-368.
- Codină, G. G., Mironeasa, S., Bordei, D., & Leahu, A. (2010). Mixolab versus alveograph and falling number. *Czech Journal of Food Sciences*, 28(3), 185-191.
- Cribb, P. (2008). Las proteínas del suero de leche de los Estados Unidos y la nutrición en los deportes. *Journal U.S. Dairy Export Coucil*. Deakin University, Geelong. Recuperado de: http://usdec.files.cms-plus.com/pdfs/sportsnutrition_spanish.pdf
- Dalla Costa, C. A., & Pécora, R. P. (2015). Rendimiento quesero teórico y real de la leche de la cuenca de Villa María, Córdoba. Recuperado de Universidad Católica de Córdoba, Argentina Sistema de Bibliotecas Tesis de pregrado.
- Dhaka, V., Gulia, N., & Khatkar, B. S. (2012). Application of mixolab to assess the bread making quality of wheat varieties. Sci. Report, 1, 183.
- Delcour, J. Hoseney, C. (2010). Principles of cereal Science and Technology. AACC International.
- Domingues, L., Guimarães, P. M., & Oliveira, C. (2010). Metabolic engineering of Saccharomyces cerevisiae for lactose/whey fermentation. Bioengineered bugs, 1(3), 164-171.
- Elzoghby, A. O., Elgohary, M. M., & Kamel, N. M. (2015). Implications of protein-and peptide-based nanoparticles as potential vehicles for anticancer drugs. *Advances in protein chemistry and structural biology*, *98*,169-221. Academic Press. https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2014.12.002
- Gil, A. & Serra. (2015). *Libro blanco del pan*. Calidad de la harina, elaboración de pan de molde. Pp. 31, 45. Ed. Médica Panamericana. España.
- Haros, M., Rosell, C. M., & Benedito, C. (2002). Effect of different carbohydrases on fresh bread texture and bread staling. *European Food Research and Technology*, 215(5), 425-430. https://doi.org/10.1007/s00217-002-0580-4
- Hernández, M., & Vélez, J. F. (2014). Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 8(2), 13-22.
- Indrani, D., Prabhasankar, P., Rajiv, J., & Rao, G. V. (2007). Influence of whey protein concentrate on the rheological characteristics of dough, microstructure and quality of unleavened flat bread (parotta). *Food Research International*, 40(10), 1254-1260.
- INEC (2013) Encuestas de superficie de producción agropecuaria. Recuperado el 19 de octubre de 2018 de: http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-

- $inec/Esta disticas_agrope cuarias/espac/espac\% 202013/Informe ejecutivo ESPAC 2013. pdf$
- INEC (2017) Reporte del Índice de producción de la industria Manufacturera (IPI-M), Mayo 2017. Recuperado el 19 de octubre de 2018 de: http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/webinec/Estadisticas_Economicas/IP I-M/2017/Mayo/Reporte_IPI_M_%202017_05.pdf
- INEC. (2010). Encuesta nacional de Manufactura y Minería: Análisis de materias primas y productos 2010. Recuperado el 7 de diciembre de 2018 de: http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_Economicas/Encuesta_Manufactura/Publicaciones/Manufactura_20 10_TomoII.pdf
- INEN (2014) Norma Técnica Ecuatoriana NTE 2945. PAN. REQUISITOS. Tabla requisitos fisicoquímicos establecidos. Ecuador.
- Jiang, S., et al. (2018). Effect of heat treatment on physicochemical and emulsifying properties of polymerized whey protein concentrate and polymerized whey protein isolate. *LWT*, 98, 134-140. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.028
- Krawczyk, P., Ceglinska, A., Kardialik, J., 2008. Comparison of technological value of spelled grain with common wheat. *Food. Sci. Technol. Qual.* 5 (60), 43e51 (in Polish).
- Layman, D. K., Lönnerdal, B., & Fernstrom, J. D. (2018). Applications for α-lactalbumin in human nutrition. Nutrition reviews, 76(6), 444-460. https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy004
- Madenci, A. B., & Bilgiçli, N. (2014). Effect of whey protein concentrate and buttermilk powders on rheological properties of dough and bread quality. *Journal of food Quality*, 37(2), 117-124.
- Maktouf, S., Jeddou, K. B., Moulis, C., Hajji, H., Remaud-Simeon, M., & Ellouz-Ghorbel, R. (2016). Evaluation of dough rheological properties and bread texture of pearl milletwheat flour mix. *Journal of food science and technology*, 53(4), 2061-2066.
- Martinez-Anaya, M. A., Devesa, A., Andreu, P., Escriva, C., & Collar, C. (1999). Effects of the combination of starters and enzymes in regulating bread quality and shelf life. *Food science and technology international*, 5(3), 263-273. https://doi.org/10.1177/108201329900500310
- Mollea, C., Marmo, L., & Bosco, F. (2013). Valorisation of cheese whey, a by-product from the dairy industry. *In Food industry*. InTech. DOI: 10.5772/5315.

- Nawaratne, S. B. (2010). Exploring Possibility of Using Davulkurundu (Neolitsea involurate)

 Leaf Extract to Improve Leavening Action and Crumb Structure of Wheat

 Bread. *Tropical Agricultural Research and Extension*, 10.
- Nishanthi, et al. (2017) Compositional and structural properties of whey proteins o sweet, acid and salty whey concentrates and their respective spray dried powders. International Dairy Journal. 74, 49-56. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.01.002
- Özer, E. D., & Öner, Z. (2015). Comparison of different methods for beta lactoglobulin isolation. *Food and Health*, 4(1), 1-8. DOI: 10.3153/JFHS18001
- Palmeri, N., Bonaventura Forleo, M., & Salimei, E. (2017). Environmental impacts of a dairy cheese chain includind whey feeding: An Italian case study. *Journal Of Cleaner Production*, 140(2), 881-889. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.06.185
- Pasmay, H. (2015) "Caracterización del Suero Lácteo de una Quesería Artesanal, localizada en la Zona 5 del Ecuador" Ingeniería de Alimentos. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil-Ecuador.
- Rathnayake, H. A., Navaratne, S. B., & Navaratne, C. M. (2018). Porous Crumb Structure of Leavened Baked Products. *International journal of food science*, 2018.
- Rebouillat, S., & Ortega-Requena, S. (2015). Potential applications of milk fractions and valorization of dairy by-products: a review of the state-of-the-art available data, outlining the innovation potential from a bigger data standpoint. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 6, 176-203. DOI: 10.4236/jbnb.2015.63018
- Rodríguez-Sandoval, E., Lascano, A., & Sandoval, G. (2012). Influence of the partial substitution of wheat flour for quinoa and potato flour on the thermomechanical and breadmaking properties of dough. Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica, 15(1), 199-207.
- Rollán, G., Gerez, C. L., Dallagnol, A. M., Torino, M. I., & Font, G. (2010). Update in bread fermentation by lactic acid bacteria. *Current research, technology and education, topics in applied microbiology and microbial biotechnology*, 2, 1168-1174.
- Rosentrater, K., & Evers, A. (2018). Kent's technology of cereals: an introduction for students of food science and agriculture. Woodhead Publishing.
- Scarnato, L., Montanari, C., Serrazanetti, D. I., Aloisi, I., Balestra, F., Del Duca, S., & Lanciotti, R. (2017). New bread formulation with improved rheological properties and longer shelf-life by the combined use of transglutaminase and sourdough. *LWT-Food Science and Technology*, *81*, *101-110*. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.042

- Seravalli, E. A. G., Iguti, A. M., Santana, I. A., & Finardi Filho, F. (2011). Effects of application of transglutaminase in wheat proteins during the production of Bread. *Procedia Food Science*, 1, 935-942. doi:10.1016/j.profoo.2011.09.141
- Tovar, O. (2013) Evaluación de un material lignocelulósico para la producción de celulasas, xilanasas y lacasas por basidiomicetos del noreste de México. Universidad Autónoma de Nuevo León. México. Doi: 10.13140/RG.2.1.3322.8324
- Whitehurst, R. J., & Van Oort, M. (Eds.). (2010). *Enzymes in food technology* (Vol. 388). Chinchester: Wiley-Blackwell.
- Yurdugul, S., Pancevska, N. A., Yildiz, G. G., & Bozoglu, F. (2012). The influence of a cellulase bearing enzyme complex from anaerobic fungi on bread staling. *Romanian agricultural research*, 29, 271-279.
- Zhou, J., Liu, J., & Tang, X. (2018). Effects of whey and soy protein addition on bread rheological property of wheat flour. *Journal of texture studies*, 49(1), 38-46.

7. Anexos

Anexo 1: Curvas de Mixolab para cada tratamiento.

Mixolab

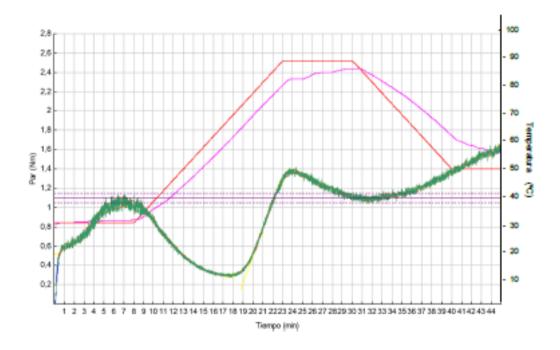
CHOPIN Technologies 20 AV. MARCELLIN BERTHELOT Z.I. DU VAL DE SEINE 92390 VILLENEUVE LA GARENNE FRANCE

TEST - 1 GA

26/12/2018 11:15 Nm/min Chopin+ Muestra: Peso de la masa : 75,0 g Nm/min 0,284 Hydration: 63,3 % base 14% (b14) Temperatura del depósito : 30,0 °C -0,040 Velocidad de amasado : Contenido de 13,20 % 80 rpm 8-30-233

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Mass (°C)	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	7,00	1,065	31,0	0,086	5,10
CS	8,00	1,020	31,0		4.93
C2	17,72	0,298	60,7		
C3	23,90	1,376	83,3		
C4	31,73	1,085	85,2		
CS	45,00	1,608	55,8		





TEST Amesador 1/2 Nº de aparato : Versión 4.1.1.4+4.11

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

TEST - 2 GA

Fecha: 26/12/2018 Hora: 16:32

Muestra:

Hydration: 61,0 % base 14% (b14)

Contenido de 11,10 % Indice: 7-41-233 Protocolo: Chopin+

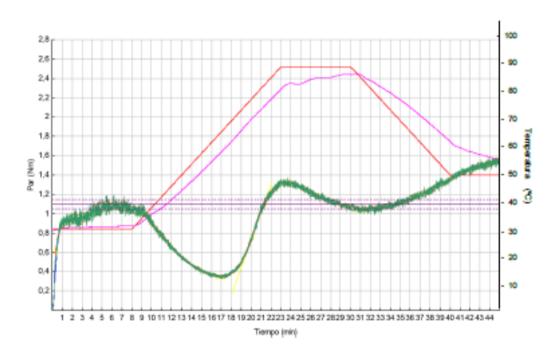
Velocidad de amasado :

Peso de la masa : 75,0 g Temperatura del depósito : 30,0 °C

30,0 °C 80 rpm : -0,104 Nm/min : 0,286 Nm/min : -0,080 Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Mass (°C)	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	6,27	1,093	31,0	0,079	8,10
CS	8,00	1,043	31,3		5.43
C2	16,87	0,348	58,0		
C3	23,33	1,323	82,9		
C4	30,95	1,037	87,2		
C5	45,00	1,554	55,7		





TEST Amasador 1/2 Nº de aparato : Versión 4.1.1.4+4.1i

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

TEST - 3 GA

Fecha: 27/12/2018 Hora: 11:51

Muestra :

Pretocolo : Chopin+

Peso de la masa : Temperatura del depósito : Velocidad de amasado : α: -0,116 Nm/min β: 0,316 Nm/min γ: -0,008 Nm/min

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

Contenido de 15,00 % Indice: 9-52-243

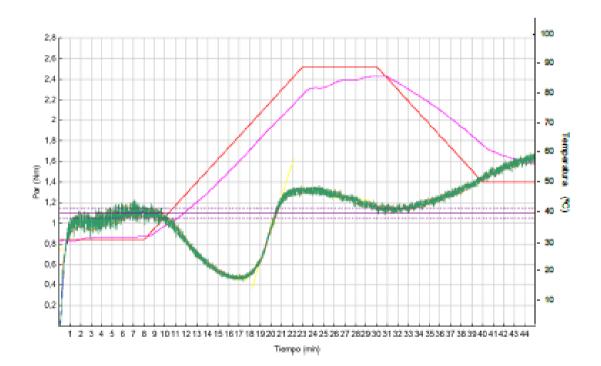
	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp Mass (°C)	Amplitud (Nm)	Establided (min)
01	7,08	1,130	31,0	0,144	9,70
CS	8,00	1,110	31,1		6.75
C2	17,25	0,469	58,2		
C3	23,13	1,323	80,8		
C4	31,58	1,124	85,3		
05	45,02	1,642	56,2		



75,0 g

30,0 °C

80 rpm



TEST Amassidor 1/2 Nº de aparato : Versión-4.1.1.4+4.11

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

TEST - 4 GA

Fecha: 28/12/2018 Hora: 10:26

Mueetra : Hydration :

62,8 % base 14% (b14)

Contenido de 13,30 % Indice: 8-41-233

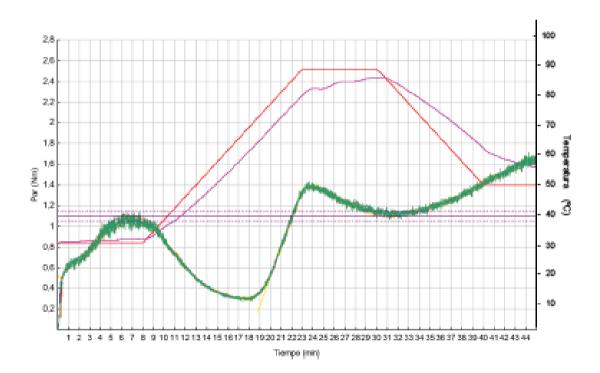
Protocolo : 9	hopin+
---------------	--------

Peso de la mase : 75,0 g Temperatura del depósito : 30,0 °C Velocided de amasado : 80 rpm

x:	-0,112	Nm/min
3:	0,286	Nm/min
(e	-0,054	Nm/min

	Tiempo (min)	Per (Nm)	Temp, Mass (°C)	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	6,57	1,079	31,3	0,078	5,50
C8	8,00	1,033	31,3		4.88
C2	17.77	0,301	80,6		
C3	23,88	1,385	83,2		
C4	31,23	1,109	86,3		
C5	45,00	1,637	56,0		





TEST Amesador 1/2 Nº de aparelo : Versión4.1.1.4+4.1i

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

TEST - 5 GA

Fecha: 28/12/2018 Hora: 12:24

Muestra :

Hydration: 62,0 % base 14% (b14)
Contenido de 12,20 %

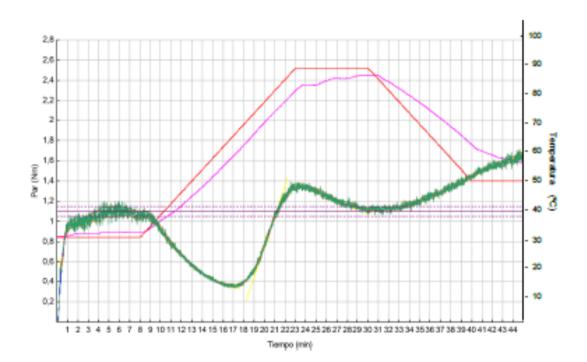
Indice: 8-41-234

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

α:	-0,100	Nm/min
β:	0,304	Nm/min
y:	-0,050	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Mass (°C)	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
CI	6,02	1,111	31,8	0,101	8,60
CS	8,00	1,085	32,0		5.43
C2	17,10	0,359	59,1		
C3	23,42	1,352	83,3		
C4	30,07	1,107	87,5		
CS	45,02	1,682	56,3		





TEST Amasador 1/2 Nº de aparato : Versión 4.1.1.4+4.11

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

TEST - 6 GA

Fecha: 02/01/2019 Hora: 09:54

Muestra : Hydration :

63,6 % base 14% (b14)

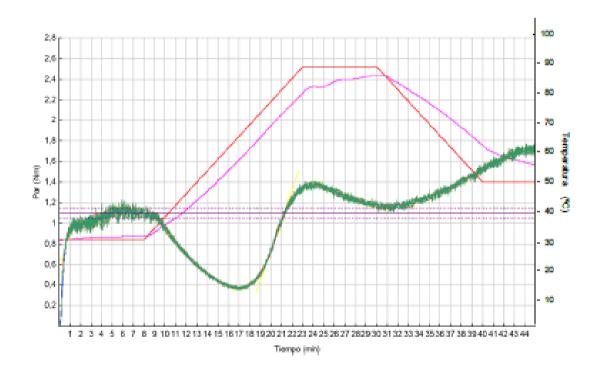
Contenido de 13,20 % Indice: 8-51-243

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

α:	-0,108	Nm/min
β:	0,294	Nm/min
γ:	-0,042	Nm/min

	Tlempo (min)	Par (Nm)	Temp. Mass (°C)	Amplitud (Nm)	Establided (min)
01	5,98	1,138	31,0	0,095	8,50
CS	8,00	1,091	31,3		5.6
C2	16,93	0,387	57,4		
C3	24,38	1,377	83,1		
C4	31,20	1,150	85,2		
C 5	45,02	1,726	56,1		





TEST Amassidor 1/2 Nº de aparato : Versión-4.1.1.4+4.11

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

TEST - 7 GA

Fecha: 02/01/2019 Hora: 13:19

Muestra : Hydration :

66,7 % base 14% (b14)

Contenido de 13,40 % Indice: 9-51-243 Protocolo : Chopin+

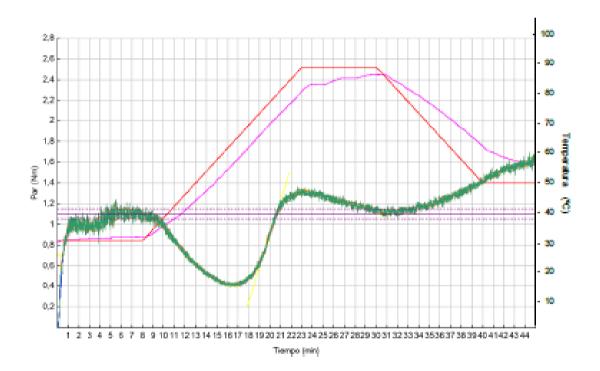
Peso de la masa : 75,0 g Temperatura del depósito : 30,0 °C

Velocidad de amasado : 80 rpm

α:	-0,120	Nm/min
β:	0,326	Nm/min
Y:	-0,032	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Masa (°C)	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
01	6,05	1,115	31,3	0,089	9,10
CS	8,00	1,088	31,3		5.83
C2	16,45	0,415	55,2		
C3	23,20	1,313	82,3		
C4	30,77	1,105	87,4		
05	45,02	1,635	56,0		





TEST Amesador 1/2 Nº de aperato : Versión 4.1.1.4+4.11

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

TEST - 8 GA

Velocidad de amasado :

Fecha: 03/01/2019 Hora: 09:21

Musetra : Protocolo :

Hydration: 67,2 % base 14% (b14)

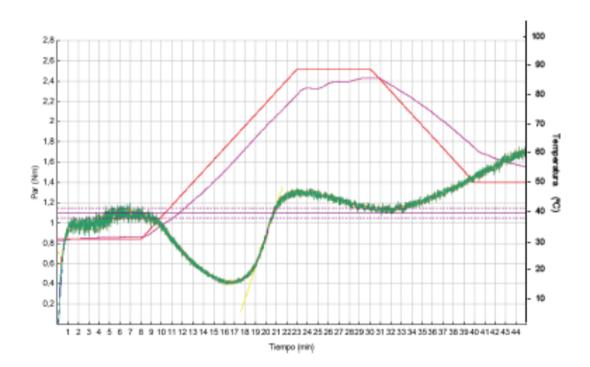
Contenido de 13,30 % Indice: 9-51-243

Protocolo: Chopin+		ox:	-0,110	Nm/min
Peso de la masa :	75,0 g	β:	0,308	Nm/min
Temperatura del depósito :	30,0 °C	**	-0.024	Nm/min

80 rpm

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Mess (°C)	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	6,70	1,103	30,8	0,104	9,00
C8	8,00	1,084	30,8		5.82
C2	16,25	0,415	54.8		
C3	22,95	1,303	80,7		
C4	32,12	1,121	84.0		
C5	45,00	1,692	65,4		





TEST Amesador 1/2 Nº de aparato : Versión4.1.1.4+4.1i

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

TEST - 9 GA

Fecha: 03/01/2019 Hora: 11:59

Muestra :

Hydration: 65,0 % base 14% (b14)

Contenido de 13,30 % Indice: 8-41-233

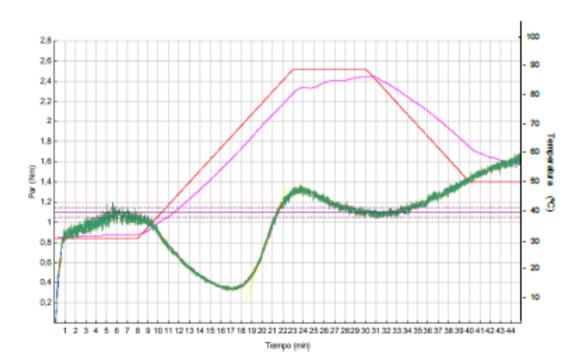
Protocolo:	Chopin+

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

α:	-0,098	Nm/min
β:	0,288	Nm/min
y:	-0,048	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Mass (°C)	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
CI	6,18	1,091	31,4	0,073	7,30
CS	8,00	1,033	31,5		5.45
C2	16,90	0,341	57,6		
C3	23,90	1,326	83,5		
C4	31,33	1,077	86,4		
CS	45,02	1,632	56,0		





TEST Amasador 1/2 Nº de aperato : Versión 4.1.1.4+4.11

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

TEST - 10 GA

Fecha: 03/01/2019 Hora: 16:31

Mueetra : Hydration :

65,0 % base 14% (b14) Tem

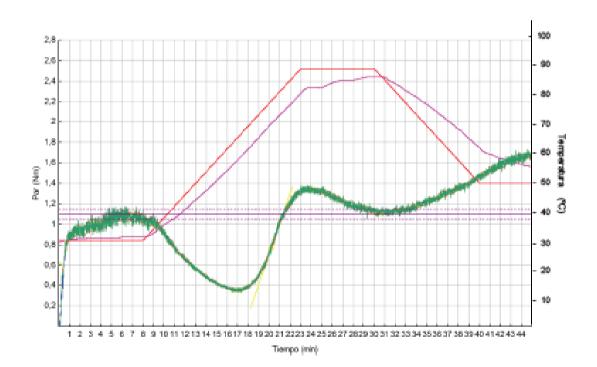
Contenido de 13,30 %

Indice: 8-41-233

Protocolo : Chopin+		o:	-0,088	Nm/min
Peso de la masa :	75,0 g	β:	0,298	Nm/min
Temperatura del depósito :	30,0 °C	γ:	-0,048	Nm/min
Velocidad de amasado :	80 mm			•

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Mass (°C)	Amplitud (Nm)	Estabilidad (min)
C1	6,57	1,088	31,1	0,080	8,40
CS	8,00	1,050	31,3		5.53
C2	16,87	0,353	57,6		
C3	23,58	1,343	83,3		
Ç4	30,40	1,110	87,3		
C5	45,02	1,671	55,6		





TEST Amendor 1/2 M* de apareto : Versión4.1.1.4+4.1i

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

TEST - 11 GA

Fecha: 07/01/2019 Hora: 10:29

Muestra :

Hydration: 61,2 % base 14% (b14)

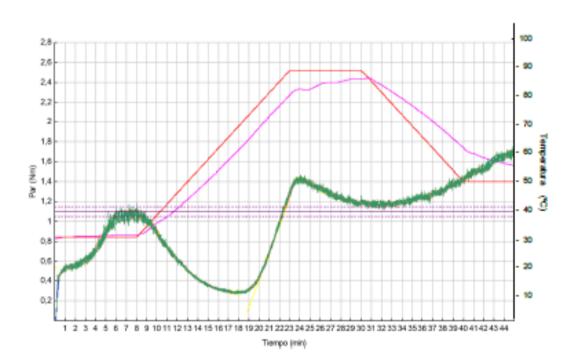
Contenido de 13,00 % Indice: 8-40-233

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

α:	-0,114	Nm/min
β:	0,272	Nm/min
y:	-0,030	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Mass (°C)	Amplitud (Nm)	Establidad (min)
CI	7,45	1,075	30,9	0,087	4,60
CS	8,00	1,069	31,0		4.8
C2	17,63	0,285	60,0		
C3	24,02	1,422	83,3		
C4	31,87	1,163	85,0		
CS	44,98	1,687	55,8		





TEST Amesador 1/2 Nº de aparato : Versión 4.1.1.4+4.11

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

TEST - 12 GA

Fecha: 08/01/2019 Hora: 09:02

Muestra:

Hydration: 63,8 % base 14% (b14)

Contenido de 13,20 % Indice: 8-51-233

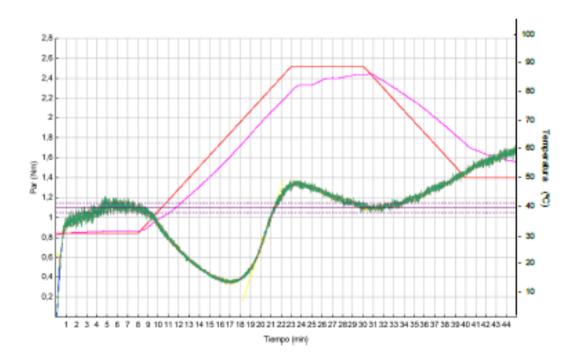
rotocolo:	Chopin+
-----------	---------

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

α:	-0,098	Nm/min
β:	0,302	Nm/min
Y:	-0,040	Nm/min

	Tiempo (min)	Par (Nm)	Temp. Mass (°C)	Amplitud (Nm)	Establidad (min)
C1	5,17	1,128	30,8	0,102	8,40
CS	8,00	1,084	31,0		5.47
C2	17,00	0,353	57,5		
C3	23,48	1,344	82,7		
C4	30,67	1,094	87,2		
CS	45,00	1,674	55,5		





TEST Amesador 1/2 Nº de aparato : Versión 4.1.1.4+4.11

Anexo 2. ANOVAS

Abso	rción	de	Agua
			, ,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,

	3						
Fuentes de	Grados de	Suma de	Cuadrado	F cal	F	Fcal/Ftab	p-valor
Variación	libertad	cuadrados	Medio	ı oaı	tab	(>1)	(<0,1)
Regresión	3	80.50	26.83	26.81	2.92	9.18	0.0002
Residuos	8	8.01	1.00				
Falta de ajuste	5	4.68	0.94				
Error puro	3	3.33	1.11				
Total	11	88.51					

Estabilidad (min)

Fuentes de	Grados de	Suma de	Cuadrado	F cal	F	Fcal/Ftab	p-valor
Variación	libertad	cuadrados	Medio	i cai	tab	(>1)	(<0,1)
Regresión	2	29.70	14.85	109.94	3.01	36.52	0.0000
Residuos	9	1.22	0.14				
Falta de ajuste	6	0.70	0.12				
Error puro	3	0.52	0.17				
Total	11	30.92					

Tiempo de desarrollo (Nm)

Fuentes de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado Medio	F cal	F tab	Fcal/Ftab (>1)	p-valor (<0,1)
Regresión	4	1.42	0.36	15.64	2.96	5.28	0.0013
Residuos	7	0.16	0.02				
Falta de ajuste	4	0.05	0.01				
Error puro	3	0.11	0.04				
Total	11	1.58					

C2-C1 (Nm)

Fuentes de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado Medio	F cal	F tab	Fcal/Ftab (>1)	p-valor (<0,1)
Regresión	1	0.015446	0.015446	50.47	3.29	15.34	0.0000
Residuos	10	0.003061	0.000306				
Falta de ajuste	7	0.002480	0.000354				
Error puro	3	0.000581	0.000194				
Total	11	0.018507					

C3-C2 (Nm)

Fuentes de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado Medio	F cal	F tab	Fcal/Ftab (>1)	p-valor (<0,1)
Regresión	1	0.076234	0.076234	566.41	3.29	172.16	0.0000
Residuos	10	0.001346	0.000135				
Falta de ajuste	7	0.000764	0.000109				
Error puro	3	0.000582	0.000194				
Total	11	0.077580					

Anexo 3. Cuestionario de evaluación sensorial

Cuestionario		
Género: M_	F	Edad:

Frente a usted hay tres muestras, por favor, pruebe las muestras de izquierda a derecha. Entre cada muestra tome agua y espere 30 segundos. Coloque el número que mejor represente su nivel de agrado para cada atributo de acuerdo a la escala mostrada en la parte inferior. Por favor verificar el **número de la muestra** antes de colocar la respuesta.

Puntaje	Calificación
9	Me gusta muchísimo
8	Me gusta mucho
7	Me gusta bastante
6	Me gusta
5	Ni me gusta ni me disgusta
4	Me disgusta
3	Me disgusta bastante
2	Me disgusta mucho
1	Me disgusta muchísimo

Muestra	Olor	Sabor	Apariencia	Suavidad	Global
876					
925					
719					

Comentarios:			