



300627  
UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA  
INCORPORADA A LA U.N.A.M.

32  
2ej

ELABORACION DE UNA MEZCLA ENZIMATICA  
PARA MEJORAR LAS PROPIEDADES  
REOLOGICAS DEL PAN

TESIS PROFESIONAL  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A :  
LIZBETH SILVA DELGADO

*Director de Tesis: M.C. Carlos Aguirre Acosta*

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

---

	página
Introducción	1
Objetivos	3
1. El Pan	4
1.1 Historia sobre el pan	4
1.2 Definición de pan	5
1.3 Valor nutritivo del pan	6
2. Componentes del Pan	9
2.1 Harina de trigo	9
2.1.1 Estructura del grano de harina	9
2.1.2 Harina	10
2.1.3 Composición de la harina	11
2.1.4 Clases de harina	13
2.1.5 Propiedades generales de las harinas	14
2.1.6 Pruebas de calidad de harinas	15
2.1.7 Función de la harina en panificación	18
2.2 Levadura	18
2.2.1 Alimentación de la levadura	19
2.2.2 Temperaturas de trabajo	20
2.2.3 Clasificación de levaduras	20
2.2.4 Requisitos de calidad de la levadura	21
2.2.5 Función de la levadura en panificación	21
2.3 Sal	24
2.3.1 Funciones de la sal en panificación	24
2.4 Agua	25
2.4.1 Tipos de agua	25
2.4.2 Efectos del agua en panificación	26
2.4.3 Funciones del agua en panificación	27
2.5 Azúcar	28
2.5.1 El azúcar en panificación	28
2.5.2 Concentración del azúcar en la fermentación	29
2.5.3 Velocidad de fermentación en masas azucaradas	30
2.6 Agentes Mejoradores	30

---

	página
2.7 Elaboración del pan	32
2.7.1 Amasado	32
2.7.2 Fermentación	34
2.7.3 Amasado y moldeado	37
2.7.4 Última fermentación	38
2.7.5 Horneado	38
2.7.6 Envejecimiento del pan	40
3. Enzimas Utilizadas en la Elaboración del Pan	42
3.1 Generalidades sobre enzimas	42
3.1.1 Especificidad	43
3.1.2 Clasificación	44
3.1.3 Catálisis enzimática	44
3.1.4 Sitio activo	48
3.1.5 Producción de enzimas	48
3.1.6 Uso industrial	49
3.2 Enzimas contenidas en el pan	51
3.3 Enzimas utilizadas para mejorar las propiedades reológicas del pan	55
3.3.1 Amilasas	55
3.3.1.1 Generalidades	55
3.3.1.2 Sustrato	59
3.3.1.3 Mecanismo de acción	61
3.3.2 Pululanasa	63
3.3.3 Hemicelulasa/ Pentosanasa	64
3.3.3.1 Generalidades	64
3.3.3.2 Sustrato	64
3.3.3.3 Mecanismo de acción	65
3.3.4 Celulasas	66
3.3.4.1 Generalidades	66
3.3.4.2 Sustrato	66
3.3.4.3 Mecanismo de acción	67
3.3.5 Proteasas	68
3.3.5.1 Generalidades	68
3.3.5.2 Sustrato	70
3.3.5.3 Mecanismo de acción	73
3.3.6 Lipoxigenasa	75
3.3.6.1 Generalidades	75
3.3.6.2 Sustrato	75
3.3.6.3 Mecanismo de acción	76

---

	página
3.3.7 Oxidasa Sulfhídrica	77
4. Metodología	78
4.1 Síntesis de actividades	78
4.2 Material	78
4.3 equipo	81
4.4 Métodos	81
5. Resultados	90
5.1 Resultados de enzimas	90
5.2 Resultados de mezclas enzimáticas	99
5.3 Resultados de panificación	112
5.4 Costo y actividades de la mezclas enzimáticas	118
6. Discusión de Resultados y Conclusiones	121
7. Bibliografía	130

## INDICE DE CUADROS, TABLAS, FIGURAS Y GRAFICAS

---

### I CUADROS

páginas

Cuadro 1.	Aminoácidos de la harina de trigo	7
Cuadro 2.	Composición del pan blanco e integral	8
Cuadro 3.	Composición de la harina	11
Cuadro 4.	Enzimas contenidas en la levadura	19
Cuadro 5.	Porcentaje de los azúcares en la harina	23
Cuadro 6.	Diferentes tipos de agua en la masa	25
Cuadro 7.	Reacciones efectuadas en el proceso de cocción	40
Cuadro 8.	Enzimas empleadas en la industria alimentaria	50
Cuadro 9.	Grupos funcionales de la harina de trigo	72
Cuadro 10.	Enzimas analizadas en el experimento	79
Cuadro 11.	Evaluación de las características del pan	88
Cuadro 12.	Significados de claves	112

### II TABLAS

Tabla 1.	Resultados de enzimas	92
Tabla 2.	Resultados de mezclas enzimáticas	107
Tabla 3.	Resultados de enzimas en panificación	114
Tabla 4.	Costo y actividades de las mezclas enzimáticas	119
Tabla 5.	Efecto de enzimas	122

### III FIGURAS

Fig 1.	Grano de trigo	10
Fig 2.	Célula de levadura	18
Fig 3.	Esquema del alveógrafo	82
Fig 4.	Curva característica de un alveograma	83
Fig 5.	Esquema de un alveograma	84

### IV GRAFICAS

Gráfica.	Efecto de enzimas sobre harina	94
Gráfica.	Efecto de mezclas enzimáticas sobre harina	110
Gráfica.	Resultados de mezclas enzimáticas en pan	117
Gráfica.	Efecto de enzima 17'	125

## INTRODUCCION

Al hablar de enzimas relacionadas con alimentos, es necesario hacer una distinción entre las enzimas naturales y las que son añadidas para lograr una modificación en el producto final.

Las enzimas, que son un tipo de proteínas, están profusamente extendidas tanto en el reino animal como en el reino vegetal y juegan un papel importante en la preservación de la vida (2).

Las enzimas son producidas por células vivas, y tienen como principal función la de efectuar las diferentes reacciones biológicas propias de cada especie. La tecnología actual permite extraerlas de su origen y utilizarlas en diferentes aplicaciones industriales para la producción de los alimentos. Estas enzimas que se adicionan directamente a los productos para modificar sus características son las enzimas añadidas. Por otra parte las enzimas naturales propias de los alimentos, pueden tener una acción tanto favorable como dañina en el producto terminado y por éso el tecnólogo debe conocer las propiedades de cada una de ellas, para aprovechar las ventajas que ofrece su presencia (1).

La enzimología, pertenece a la era moderna; sin embargo, su uso para la producción de alimentos, se remonta a muchos siglos atrás. El hombre ha estado utilizando enzimas durante siglos. El efecto benefactor de tales compuestos en ciertos tipos de reacciones se ha conocido mucho antes de que se tuviera idea de su composición química y mucho menos del análisis cuantitativo de dichas sustancias. El uso de las enzimas en la antigüedad estaba relacionado con la fabricación de bebidas alcohólicas y pan. Existen datos sobre la preparación de agentes enzimáticos provenientes del año 7,000 a.C., y la fabricación de cerveza era un negocio establecido en el año 5,000 a.C. (2).

Cada alimento contiene ciertas enzimas naturales que desempeñan un papel muy importante en su calidad sensorial y nutricional. En general, la acción de estas enzimas es muy variada y en algunos casos pueden causar daños similares a las contaminaciones microbianas que ocurren en muchos alimentos frescos o procesados (1).

La clasificación más comúnmente utilizada identifica la enzima en términos de sustrato, es así que tenemos proteasas que dejan su efecto en proteínas, carbohidrasas que inician cambios en moléculas de carbohidratos, lipasas que fraccionan grasas y célulasas que reaccionan en la larga y compleja cadena de moléculas presentes en materias celulósicas (39).

Los cereales más comunes como trigo, maíz, sorgo, arroz y cebada, continúan con su actividad enzimática aún después de cosechados y almacenados. Las enzimas más importantes en estos productos son básicamente hidrolasas como proteasas, lipasas y amilasas, que forman parte del sistema respiratorio y el metabolismo de los cereales (1). En la elaboración del pan, se necesitan varias enzimas: amilasas, lipoxigenasas, enzimas glicolíticas, enolasas, (formadoras de CO<sub>2</sub>) y proteasas (5). De todas éstas, las que más interesan son las amilasas, ya que son muy activas y producen los cambios más notables en los cereales y productos derivados (1).

El tecnólogo de alimentos enfoca las enzimas desde diferentes puntos de vista; desde luego que uno de los aspectos fundamentales está constituido por los procesos en los que se produce un cambio mediante la adición de una enzima. Pero también el tecnólogo de alimentos enfrenta la presencia de enzimas en prácticamente todos los materiales que maneja, de tal forma que deberá, en ciertos casos, crear las condiciones adecuadas para que actúen enzimas endógenas responsables de cambios benéficos en los alimentos (3). En realidad, la mayor parte de las enzimas disponibles para su aplicación en alguna etapa del procesamiento de alimentos, pueden considerarse como aditivos.

En la actualidad las enzimas más utilizadas como aditivos en la industria de la panificación son las amilasas, que se adicionan durante la elaboración del pan con el fin de que proporcionen un producto de mejor calidad (4). Son clasificadas como carbohidrasas, convierten el almidón presente en los cereales en azúcares. Los dos tipos de amilasas alfa y beta son enzimas importantes en la industria de la panificación porque tienen la habilidad de fraccionar moléculas en diferentes formas. La fracción alfa está presente normalmente en bajas cantidades en la harina, ésta se puede aumentar al agregarse trigo malteado o adicionar amilasa fungal. Al alterar las moléculas de almidón en la harina, la amilasa alfa hace posible que la amilasa beta aumente la conversión de azúcares en apoyo de la levadura para que ésta cumpla su función en forma satisfactoria (39).

Para los fines de este trabajo se considera que dada la amplitud del campo de utilización de los diferentes tipos de enzimas sobre los alimentos, es posible obtener un producto que supere el desempeño de los actualmente existentes en la industria de la panificación mexicana utilizando además de amilasas otro tipo de carbohidrasas como lo son celulasas y hemicelulasas (1), así como con la ayuda de proteasas, las cuales son utilizadas en productos de panadería para modificar los péptidos y reducir el tiempo de mezclado requerido para el desarrollo de la masa (39).

## OBJETIVOS

- 1) La elaboración de un producto enzimático, basado en enzimas cuyo sustrato sea el almidón y/o otros polisacáridos de la harina de trigo, cuyo fin sea el mejoramiento de las propiedades reológicas del pan.
- 2) La determinación de un producto enzimático que sustituya a los similares existentes en la actualidad, pero cuyo costo de utilización sea menor al de éstos.

## I. EL PAN

### 1.1 HISTORIA SOBRE EL PAN

El hombre en sus inicios fue frutívoro ( que comía frutas) o bien granívoro ( que comía granos). Al principio comía los granos de trigo tal como se encuentran en la naturaleza, después se inició en los cultivos de los cereales entre los años 8000 a 6000 a.C. (43). Cuando el hombre descubrió el fuego, comenzó a cocer los granos en agua, más tarde se le ocurrió pasarlos por fuego para asarlos y finalmente empezó a despojar los granos de su corteza y molerlos con dos piedras. La ruda harina obtenida de este modo era humedecida para hacer una especie de galleta sin forma, mezclada con salvado, y hasta con grava (48).

La obtención del pan, al igual que otras industrias en las que interviene la fermentación, es un arte que se ha practicado desde los tiempos más remotos de que se tienen noticia. En la literatura clásica, hay muchas alusiones a la confección del pan, y los descubrimientos en las pirámides y tumbas de Egipto han revelado muchos datos interesantes concernientes a los tipos y calidades del pan que comía en la antigüedad el pueblo de aquel país (46).

Los historiadores están de acuerdo en que el verdadero pan, el fermentado, fue inventado por los egipcios por una casualidad (48). Después de extenderse entre los hebreos, egipcios y pueblos vecinos, este tipo de alimentación fue adoptada también por los griegos, que mejoraron y aumentaron la diversidad. Estos fueron los primeros que elaboraron el pan de centeno y los panes aromatizados, además de ser los primeros en elaborar bizcochos y la verdadera pastelería.

Mucho tiempo después, los romanos (3000 años a.C.) llegaron a una exagerada sofisticación, a tal grado que el número de ingredientes usados en esa época supera ampliamente al número de ingredientes usados en nuestros días.

El arte de hacer pan fue llevado a la Galia por los ejércitos de Julio César. En el Siglo V, no se sabe nada en concreto sobre el estado en que se encontraba la elaboración del pan, lo único que es que en ese tiempo se empezó a añadir sal de más en más, y con el pretexto de economizar, los pueblos ribereños amasaban la harina con agua de mar. Esta particularidad de añadir sal(mejorante), fue la característica más importante lograda durante ese época; costumbre que permanece hasta nuestros días.

La Edad Media (siglo V a XV) el arte de hacer pan se pierde. Durante los siglos XII y XIII se vuelve a la elaboración del pan, y se empieza a agregar a la masa granos de legumbres. Después de la Edad Media, tienen lugar nuevas formas en el arte de hacer pan (48).

En 1840 se empieza a elaborar un pan fermentado únicamente con levadura de cerveza. A principios del siglo XIX, se introduce una nueva levadura, es en granos fabricada para la panadería.

A principios del siglo XX, el pan era elaborado por la ama de casa, pero con el desarrollo de las ciudades, la confección del pan pasó gradualmente desde el ámbito doméstico a la tahona familiar. Esta situación duro muchos años, hasta el comienzo del presente siglo, donde se abre una nueva fase para la historia de la panificación con el rápido incremento de la mecanización de la panaderías (46).

En la actualidad, el arte de hacer pan se basa en toda una tecnología, los métodos de "ojo de buen cubero" y al azar han pasado a un control científico, para lograr así, por medio de investigaciones y la elaboración de nuevos productos mejoradores del pan, así como productos de apariencia exquisita y calidad uniforme.

## 1.2 DEFINICION DE PAN.

El pan, es el producto resultante de la cocción de una masa obtenida por la mezcla de harina de trigo, sal, agua, fermentado por levaduras activas, obtenidas por la proliferación del Saccharomyces minor y/o Saccharomyces cerevisiae. Se pueden añadir otros ingredientes como harina de otros cereales, grasa, harina de malta, harina de soya, sales, emulsionantes, leche y productos lácteos, fruta, gluten y otros mejorantes (4, 47, 48).

" El pan es fundamentalmente gluten esponjado"(Atkins, 1971).

Hablar de calidad en panificación, se refiere a aquellas piezas obtenidas con un mismo tamaño, densidad, textura rígida (pero de buena masticación) y que a la vez les sea conferida un sabor que las caracterice de los demás tipos de pan existentes. Para que el pan sea de buena calidad debe alcanzar suficiente volumen, aspecto atractivo tanto en la forma como en el color y una miga finamente vesiculada y suficientemente blanda para permitir una fácil masticación, pero al mismo tiempo suficientemente firme para que se le pueda cortar en rebanadas. La obtención de un pan de buena calidad depende en parte de las características inherentes a sus ingredientes, particularmente la harina y también en parte al proceso de cocción (46).

El pan es un producto con índices altos de consumo, adopta distintas formas en las diferentes partes del mundo. El pan es parte importante de nuestra dieta y nos proporciona muchos de los elementos esenciales para la adquisición y mantenimiento del bienestar y la salud (18).

### 1.3 VALOR NUTRITIVO DEL PAN.

El alimento se puede definir como: cualquier sólido o líquido que, al ingerirlo, puede suministrar al cuerpo una o más de los tres requerimientos siguientes:

1) Materias con las que puede producir calor y otras formas de energía.

2) Materiales que puede utilizar para crecer, reparar tejidos o para la reproducción.

3) Sustancias que normalmente regulan la producción de energía o los procesos de crecimiento, reparación o reproducción.

Las sustancias que componen los alimentos son las siguientes:

a) Hidratos de carbono. Entre los que se encuentran los azúcares y almidones. Sumiistran al organismo energía, y con ellos puede producirse grasa.

b) Grasas. Suministran calor y materiales para elaborar su propia grasa.

c) Proteínas. Suministran energía y materiales para el crecimiento y reparación de los tejidos.

d) Sustancias minerales. Aportan materiales para el crecimiento y reparación de los huesos y para la regulación de la vitalidad normal del organismo.

e) Vitaminas y otros factores que regulan los procesos del organismo.

Aunque todos los alimentos no contienen todos los nutrientes deseados, la mayoría de ellos son mezclas de varios (46).

El pan, sin embargo, es casi único, contiene todos los nutrientes, aunque no en las proporciones ideales. No obstante, la combinación de alimentos tales como leche y pan, pan con queso y un buen bocadillo de carne, están próximos al ideal del requerimiento necesario del cuerpo humano (46).

La harina de trigo aporta a la dieta hidratos de carbono (principalmente almidón), proteínas, grasa, vitaminas y sales minerales. Los principales minerales son: Calcio, fosforo y hierro (46). Se le considera como un alimento calórico, rico en hidratos de carbono, pero su contribución en proteínas y vitaminas, particularmente del grupo B, y en sales minerales es también importante. Así, la harina y por consiguiente el pan contribuyen a la dieta de muchos países con una proporción rica proteínas y calorías (43).

En la siguiente tabla se da la composición en aminoácidos de las proteínas de la harina de trigo según Bradley (43).

Aminoácidos de la harina de trigo (43).

AMINOACIDO	CONTENIDO (g/ 16 g N)	*REQUERIMIENTO (mg/kg)
Alanina	2.78	-
Arginina	3.80	-
Acido aspártico	4.14	-
Cistina	2.11	6
Acido glutámico	34.5	-
Glicina	3.22	-
Histidina	1.88	8 a 12
Isoleucina	4.26	10
Leucina	6.98	14
Lisina	2.08	12
Metionina	1.73	7
Fenilalanina	4.92	7
Prolina	11.7	-
Serina	5.44	-
Treonina	2.82	7
Triptófano	1.02	3.5
Tirosina	3.25	7
Valina	4	10

\* El requerimiento dado en esta tabla está basado, en los mg/kg que necesita una persona adulta al día. Se aclara que solo se da el requerimiento necesario de los aminoácidos esenciales (72, 73).

Al convertir la harina en pan, hay una ligera caída de la fenilalanina y de la tirosina en los hidrolizados de proteína. Las pérdidas son algo mayores en la corteza que en la miga y hay también una pequeña pérdida de lisina en los hidrolizados de la miga. Esto, aparentemente es debido a una reacción coloreada, de los aminoácidos con los azúcares (reacción de Maillard).

El pan integral es una fuente de fibra no digerible, es decir de la parte de alimento que no se digiere, no absorbe y cuyo papel en la fisiología del aparato digestivo ha sido estudiado en recientes investigaciones, debido a que le proporciona ayuda en su buen funcionamiento (4).

El pan es uno de los alimentos que más dispone la humanidad para su consumo. El contenido en grasa es algo escaso, pero esto se compensa generalmente con la adición de mantequilla, margarina o manteca. La preponderancia de los hidratos de carbono hace aconsejable su consumo junto con otros alimentos más ricos en grasa o proteína. Como alimento es muy bien asimilado por el organismo.

En la siguiente tabla se da un análisis bromatológico del pan blanco e integral según Hutchison (46).

Composición del pan blanco e integral (46).

COMPONENTES	BLANCO %	INTEGRAL %
Agua	40.0	45.0
Proteína	6.5	6.3
Grasa	1.0	1.2
Carbohidratos	51.2	44.8
Celulosa	0.3	1.5
Sustancias mine- rales.	1.0	1.2

## II COMPONENTES DEL PAN.

### 2.1 HARINA DE TRIGO

Para poder hablar de harina de trigo, primero hay que hablar del trigo.

El trigo es el más importantes de los cereales, y como crece en casi cualquier tipo de suelo y en climas moderadamente templados, es un de los cultivos más ampliamente distribuidos por el mundo. Existen tres especies comunes de trigo. Dos de ellos, los trigos común (*Triticum aestivum*) y club (*Triticum compactum*), se utilizan para fabricar harina, el tercero, el trigo duro, se utiliza para hacer productos de pastas secas. El trigo apropiado para la harina se puede clasificar de acuerdo al color de la superficie de la semilla (blanca o roja), la estación en que se planta (invierno o primavera) y si es dura o suave la harina que se obtiene de él. El endospermo del trigo duro muestra mayor resistencia al aplastamiento durante el proceso de molienda. Las diferencias entre el trigo duro y suave se atribuyen solamente a la mayor proporción de proteínas y almidón en el duro. Sin embargo, evidencias recientes indican que la dureza del trigo duro proviene de la mayor continuidad de la matriz de proteínas dentro de las células y los enlaces más firmes de los gránulos de almidón con esta matriz (42, 48, 46).

#### 2.1.1 Estructura del Grano de Trigo

La cubierta de un grano de trigo está compuesta por cinco capas; las tres primeras constituyen al salvado que se separa del resto durante la molturación. La capa más externa es la epidermis. Después viene el epicarpo, cuya fibra va paralela a la longitud del grano; mientras que la estructura de la capa siguiente, el endocarpo, es transversal. La capa siguiente es la testa, de estructura muy fina, contiene la verdadera envoltura del grano. En esta capa se encuentra el pigmento que da color al trigo. La última capa de la aleurona, compuesta por células que contienen los granos de aleurona. Frecuentemente se considera que pertenece al salvado, pero, de hecho, está íntimamente ligada al edospermo. En el trigo hay una sola capa de estas células, que contienen en proporciones considerables materia proteica, sustancias grasas y minerales.

Los constituyentes químicos se distribuyen en forma heterogénea entre las diferentes partes anatómicas del trigo. El endospermo representa el 80% en peso del grano y contiene el 72% de proteínas, mientras que el escudeto que se supone menos del 2% en peso del grano, contiene el 60% de tiamina. La mayor parte de la niacina (82%) se encuentra localizada en la capa de la aleurona, cuyo peso sobre el total del grano supera el 7%. Los minerales también se encuentran en la capa de la aleurona (43, 46).

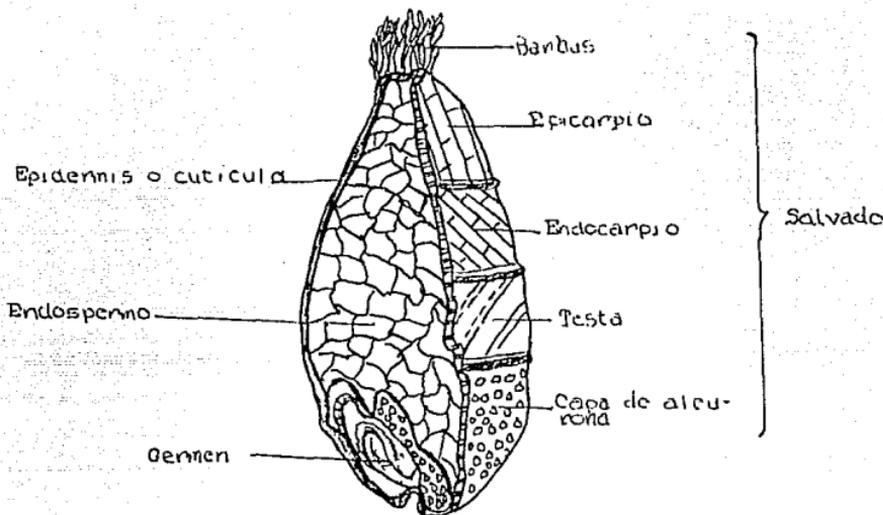


Fig 1. Grano de trigo.

Esta heterogeneidad en la distribución de constituyentes da lugar a una composición química muy diversa para los productos de la molienda. Se observa que, en términos generales, el germen es la fracción más rica en nutrientes y en aceite, seguido por el salvado. Sin embargo, estos productos también son ricos en celulosa, lo que dificulta su utilización directa en la alimentación. El proceso de molienda origina una pérdida importante de nutrientes, que quedan retenidos en los subproductos no dirigidos a consumo humano (43).

### 2.1.2 Harina

El proceso de molienda tiene por objeto separar el endospermo del salvado y del germen y reducirlo a harina, por lo que la harina se obtiene de la molienda de los granos de trigo. Esto se realiza mediante molinos de rodillos, que erosionan, desgarran y trituran el grano, siendo esta acción diferente, respectivamente, sobre el endospermo, salvado y germen, lo que permite su separación por medio de tamices y separadores de aire. La harina de cada máquina es distinta respecto a la calidad panadera, color y granulosis, cantidad de fibra y nutrientes y así mismo la cantidad de ceniza que da por incineración (4, 43, 48).

### 2.1.3 Composición de la harina

La composición de la harina y, por tanto, el grado de retención de nutrientes, dependen del grado de extracción (harina obtenida de una o varias partes del trigo). Las harinas de grado de extracción creciente contienen menos hidratos de carbono y mayor proporción de grasa, proteínas, fibra, vitaminas y minerales.

Las partes constituyentes de la harina son las siguientes: 1) almidón; 2) proteínas (proteínas solubles del trigo, del tipo de la albúmina y gliadina, e insolubles como la glutenina, una de las partes principales del gluten); 3) grasas; 4) azúcares; 5) sales minerales; 6) humedad; 7) pequeñas cantidades de celulosa.

El equilibrio de estos componentes es importante cuando la harina se destina a panificación, pues pequeñas variaciones implican cambios significativos en las cualidades o en la naturaleza física de la harina.

En la siguiente tabla se da el porcentaje de los componentes de una harina de panificación (46).

Componentes de la harina (46)

COMPUESTO	PORCENTAJE (%)
Proteína de gluten	11.0 %
Almidón	69.0 %
Azúcar	2.5 %
Proteínas solubles	1.0 %
Grasas	1.0 %
Sales minerales	0.5 %
Humedad	15.0 %

#### 2.1.3.1 Almidón

En la harina corriente de panificación, una gran cantidad del almidón está en forma de gránulos aislados. Las moléculas de almidón que forman estos gránulos están formadas por centenares de moléculas de glucosa unidas con otras formando una cadena. Se ha estimado que un 23% del almidón de trigo está compuesto por moléculas cuyas cadenas contienen 200- 300 unidades de glucosa; esta fracción se llama amilosa. El resto es amilopectina, compuesta por más de mil moléculas de glucosa unidas en forma de cadenas que se ramifican y se vuelven a ramificar formando una estructura arborescente ( se hablará más detalladamente del almidón en el capítulo 3).

#### 2.1.3.2 Proteínas

Las proteínas de la harina se pueden dividir en cuatro grupos: 1) solubles en agua fría; 2) solubles en disolución salina; 3) solubles en alcohol al 75%, y 4) insolubles en cualquiera de estos disolventes.

Las proteínas solubles están formadas por dos sustancias típicas: albúmina, que es soluble en agua, y globulina, soluble en solución salina. Hay también sustancias de estructura y composición más simple, llamadas proteasas y peptonas, las cuales son utilizadas por la levadura como alimento (46).

Las proteínas insolubles constituyen el gluten, que se puede separar por lavado de cualquier harina de trigo. Se considera que el gluten está compuesto por gliadina, globulina, glutenina y pequeñas cantidades de aceite, fibra o celulosa y sales minerales. El gluten le da al amasijo elasticidad, extensibilidad y tenacidad; propiedades que bien balanceadas son las que regulan la propiedad de retener el gas (46, 48).

#### 2.1.3.3 Aceites o grasas

Las grasas o aceites están presentes en la harina generalmente en cantidades no mayores del 1%. En ellas se encuentra la sustancia colorante caroteno, que da color a la harina. Las harinas poco finas tienen mayor cantidad de aceites que las muy finas. En el germen de trigo hay un 10% (46).

#### 2.1.3.4 Azúcares

En la harina hay cierta cantidad de azúcar natural que tiene la composición y propiedades del azúcar de caña. También hay maltosa, juntamente con productos intermedios entre almidón y el azúcar.

Maltosa: Está presente en cantidades de 0.5 % y es fermentada por la levadura.

Glucosa: Está en la harina en cantidades de 1.5 - 2 %. Es por tanto, el principal azúcar.

La glucosa es el azúcar sobre el cual actuó la levadura de la masa.

Dextrosa: No está en la harina, pero siempre se encuentra en la masa debido a la inversión de la glucosa.

#### 2.1.3.5 Sales minerales

La materia inorgánica natural no está en gran cantidad en la harina. Varía con el grado de finura. La materia inorgánica de la harina es principalmente fosfato potásico; también hay cantidades más pequeñas de fosfato cálcico y magnésico, y vestigios de sulfatos de hierro y aluminio (42, 46).

#### 2.1.3.6 Humedad

La cantidad depende de la variedad de trigo, y de las condiciones meteorológicas de la recolección.

Para la molienda se acondiciona el trigo, ajustándose la humedad para poder conseguir la mayor cantidad de harina de buena calidad. Esto, en la mayoría de los casos, supone la elevación del contenido de humedad y la obtención de una harina con humedad cercana al 15%.

La harina es una materia higroscópica, en condiciones de sequedad, pierde agua, y en tiempo húmedo, la absorbe. Esto se refleja, a su vez, en la conservación; por una parte se produce una pérdida de peso, que puede tener su importancia en el caso de harinas envasadas, y por la otra, puede dar lugar a que se desarrollen mohos. La humedad de la harina debe oscilar alrededor del 14% (4, 46, 48).

#### 2.1.3.7 Celulosa

El porcentaje de fibra o celulosa en la harina muy fina es bajo, pero aumenta con la intensidad de la extracción. En el caso de harinas de 80% de extracción es de 0.21%; las de 85% de extracción 0.5%, y la harina integral tienen 0.6% (46).

### 2.1.4 Clases de Harinas

Las harinas se dividen en dos grandes grupos en función de su origen:

- 1) Duras: Con gran contenido de proteína. Se extraen de trigos de gran contenido de proteína.
- 2) Suaves: De bajo contenido de proteína. Se extraen de trigos de bajo contenido de proteína.

La harina utilizada en pan se muele de distintos trigos duros o combinaciones con bajo contenido de trigo suave. La harina de trigo duro es más alta en proteína, tiene un gluten más fuerte y absorbe

niveles de agua más altos que suave, que se utiliza en la fabricación de pasteles y galletas. La harina de trigo duro tiene la sensación un poco tosca y granulada y se cae en partículas individuales al moverla. La harina de trigo suave tiene una sensación llana, se aglomera y mantiene su forma al ejercer presión (17, 42, 48).

Para el pan hay cuatro clases de harina:

- 1) Integral.- Contiene todas las partes del trigo.
- 2) Completas.- Son las más comunes, se obtienen al moler el trigo, separando sólo el salvado y el germen.
- 3) Patente.- Es la mejor harina que se obtiene hacia el centro del - endospermo; tiene la mejor calidad panificable, es blanca y tiene poca ceniza.
- 4) Clara.- Es la porción de harina que queda después de separar la patente. En algunas regiones se le llama de segunda. Es más oscura y contiene más ceniza.

## 2.1.5 Propiedades Generales de las Harinas

### 2.1.5.1 Fuerza

Una de las propiedades más importantes de una harina desde el punto de vista panadero, es la llamada fuerza; ésta se define como la medida de la capacidad de una harina para producir una pieza de pan bien crecida y de gran volumen.

El volumen del pan no depende solamente de la calidad de la harina, sino también de la manipulación del panadero. Todas las harinas fuertes necesitan un período de fermentación mucho más largo que las harinas flojas, para producir un pan bueno y voluminoso, el grado de fermentación que resiste una harina es un índice importante de calidad. Es la estabilidad más que la fuerza lo que se necesita, en virtud de que la harina debe dar masa suficientemente estable para conservar su forma después de moldeada (46, 42).

### 2.1.5.2 Tolerancia

Podemos definir la "tolerancia de la fermentación" (tiempo de fermentación), como la capacidad de una harina para soportar un proceso de fermentación durante un período de tiempo superior al normalmente necesario para alcanzar el grado correcto de maduración, dando todavía un pan satisfactorio (46).

### 2.1.5.3 Color de la harina

Depende fundamentalmente de la naturaleza de los trigos de donde procede, de la eficiencia del sistema de limpieza del trigo, del grado de extracción, de la finura y de si se han empleado o no tratamientos químicos de decoloración.

La harina debe tener un matiz cremoso, pues de no ser así el pan tendría la miga excesivamente blanca. Este matiz de la harina se controla mucho con el blanqueo (46, 48).

### 2.1.5.4 Absorción

Es la propiedad de absorber la mayor cantidad de agua dando un producto de buena calidad. Una buena harina para pan se conoce por tener fuerza, tolerancia y absorción (48).

### 2.1.5.5 Maduración

Las harinas recién molidas pueden dar problemas en panificación, por lo cual se les deja madurar. Hoy en día se maduran químicamente o las dejan reposar cierto tiempo antes de entregarlas al panadero. Se deja reposar en un lugar aireado, la mejora se produce ya que la acidez de la grasa aumenta al principio, debido a la actividad lipolítica y después disminuye por la acción lipoxidásica; aparecen productos de la oxidación de los ácidos grasos, provocando así la maduración de la harina. Los agentes químicos que se utilizan para madurar la harina son: Cloro, dióxido de cloro, bromato potásico, persulfato potásico, ácido ascórbico y azodicarbonamida (48).

## 2.1.6 Pruebas de Calidad de Harina

El ingrediente principal de panificación, la harina, recibe atención extensa por las industrias molinera y panadera para asegurar su uniformidad. Debido a los diferentes procesos usados en la panificación y a las diferencias en el equipo usado, las panaderías han desarrollado sus propios requisitos y procedimientos para obtener las características necesarias y niveles uniformes.

La calidad panadera de la harina y su comportamiento en el proceso de panificación dependen de un gran número de factores, entre los que cabe citar: su capacidad de hidratación, la extensibilidad y elasticidad de la masas, la capacidad de producir gas por acción de la levadura, la de retención de gas, el comportamiento de la masa en el proceso de cocción, capacidad de mezclado y la calidad de proteína (43, 17).

Actualmente se dispone de un gran número de aparatos que permiten evaluar, a nivel laboratorio, con cantidades pequeñas de harina, los factores citados y por tanto predecir el comportamiento de una partida en el proceso industrial.

Las pruebas de calidad que se le hacen a la harina son:

- Humedad. El contenido de agua en la harina es una característica importante, particularmente en relación con la seguridad de su almacenamiento.

- Almidón alterado o dañado. El grado de alteración en la harina, influye en su capacidad para absorber agua. Esta alteración se estima con métodos que miden la cantidad de maltosa liberada del almidón por la acción de la amilasa. Solamente los granos lesionados son susceptibles a la amilasa en estado no gelificado.

- Análisis del tamaño de partículas. Se puede practicar con los ensayos de tamices estándar.

- Prueba de sustancias extrañas. El recuento de pelos de roedores y de fragmentos de insectos en la harina, se practica tomando una muestra de harina y añadiendo a ésta petróleo en un embudo de decantación. Los pelos y fragmentos de insectos quedan retenidos en la interfase petróleo/agua donde se pueden recoger e identificar.

Las pruebas de calidad panadera que se le practican a la harina son:

- Actividad de la alfa-amilasa. La actividad de la alfa-amilasa se mide en el ensayo del número de caída de Hagberg que indica hasta qué punto reduce la viscosidad de una pasta de harina/agua la hidrólisis amilolítica del almidón. Los fabricantes procuran evitar lotes de trigo con excesiva actividad alfa-amilásica. Otro método es el de Rumsey, da la cantidad de maltosa presente en la harina, expresada en % después de haber incubado una suspensión en agua a 27°C durante una hora; esto nos determina el índice de maltosa para expresar la actividad diastásica.

- Pruebas de panadería. Los ensayos de calidad de la harina se eligen en función del destino final previsto para esa harina.

- Pruebas de amasado. No ha estandarizado un ensayo de panificación, pero en su lugar ha definido la harina de calidad panadera como aquella que produce una masa que no se pega a las palas o al recipiente de la amasadora.

- Ensayos de proteína. La calidad y cantidad de proteína del trigo se puede investigar levando el gluten y pesándolo húmedo y después de desecado, examinar sus características físicas y el color.

- Pruebas de sedimentación. Las proteínas del gluten se hidratan e hinchán en el agua y en solución diluidas de sustancias químicas, el volumen de las partículas de harina hinchadas o aglomeradas, se utiliza como medida de la cantidad y calidad del gluten.

Las pruebas físicas de la harina se hacen por medio de aparatos y son:

- El farinógrafo de Brabender. Mide la plasticidad y movilidad de la masa cuando se le somete a amasado continuo a temperatura constante.

- El extensógrafo de Brabender y el Research extensómetro. Registran la resistencia de la masa a estirarse y la longitud que se estira la masa antes de romperse.

- El alveógrafo de Chopin. Aire a presión se inyecta en la masa para producir una burbuja hasta que la rompe; el instrumento registra continuamente la presión de aire y el tiempo que pasa antes de que se rompa la masa.

- El amilógrafo de Brabender. Mide continuamente la resistencia a la agitación de una suspensión al 10% de harina en agua mientras se va elevando la temperatura a la velocidad constante de 1.5 °C/min, desde 20°C a 95°C y luego se mantiene a 95°C. Es de utilidad para probar harinas para sopas, etc., para cuyo destino, una característica importante es la viscosidad del producto después de la gelificación y para ajustar la adición de malta a las harinas de panificación.

- El Research Water Absorption Meter (medidor de absorción de agua). Mide la velocidad de extrusión de la masa por un pequeño orificio bajo condiciones controladas. Mediante pruebas de masas con diferentes cantidades de agua y registrando gráficamente los resultados, se puede estimar la cantidad de agua necesaria para producir masas con características de flujo estándar (4, 17, 43, 46).

### 2.1.7 Función de la Harina en Panificación

La harina forma, con agua, sal y levadura, la masa panaria. En la fermentación, y debido al carácter elástico de la misma, la masa es capaz de retener el gas generado en su interior, aumentando su volumen y dando, por cocción el pan. Los azúcares preexistentes en la harina son fermentados por la levadura, dando como resultado CO<sub>2</sub>; el cual es retenido por la masa elástica, esponjándola. Las amilasas de la harina producen maltosa y glucosa desde que encuentran las condiciones adecuadas. También se generan en la fermentación un gran número de componentes volátiles que contribuyen a producir el aroma típico del pan recién cocido.

La mayor parte de los constituyentes de la harina contribuyen al proceso de panificación. No obstante, las proteínas son las responsables principales de la capacidad de la harina de trigo para originar la masa panaria (42, 43, 46).

### 2.2 LEVADURA

La levadura, son hongos microscópicos que pertenecen a la familia del *Saccharomyces*. No todas las levaduras son aptas para la panificación, las utilizadas por los panaderos son normalmente *Saccharomyces cerevisiae*.

Estas plantas microscópicas son unicelulares, de forma redonda u ovalada, su diámetro varía entre 10 y 6  $\mu\text{m}$ , y como ser vivo implica que se alimente, reproduzca y muera. La célula se compone de la siguientes partes:

- a) Núcleo
- b) Protoplasma: citoplasma  
gránulos de glicógeno  
vacuola  
cuerpos grasos
- c) Membrana.

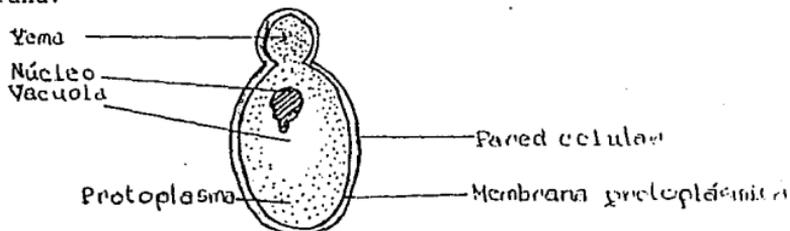


fig 2. Célula de levadura (46).

La célula de levadura se multiplica por gemación cuando se cultiva en un medio adecuado. Hay levaduras espontáneas y cultivadas, pero en panificación se ha demostrado que las especies cultivadas especialmente son capaces de dar mejores resultados (42, 46, 48).

### 2.2.1 Alimentación de la Levadura

La célula de la levadura es muy exigente y necesita un suministro de alimentos que no estén demasiado concentrados. Muy pocas levaduras fermentan activamente una solución de azúcar de concentración mayor al 15%, siendo la concentración óptima 10 -12%.

El alimento debe contener sustancia nitrogenada soluble, tal como peptonas y compuestos aminados derivados de proteínas, en cantidades que no excedan del 2%. Son necesarias sales minerales, especialmente fosfatos de potasio, magnesio y amonio en concentraciones que no pasen del 1%, y se consideran esenciales, por centajes muy bajos de grasa emulsionada ( 42, 46).

Las actividades de la levadura dependen de su contenido en enzimas, coenzimas y activadores.

Las enzimas son segregadas por la levadura durante su proceso de vida. Actúan como catalizadores en la fermentación ayudando a que se produzca la conversión de algunos azúcares compuestos a azúcares más simples y fácilmente digeribles por la levadura.

En la siguiente tabla se dan algunas enzimas presentes en la levadura, junto con el sustrato y productos resultantes de la hidrólisis.

Enzimas contenidas en la levadura (46).

ENZIMA	SUBSTRATO	PRODUCTO
Maltasa	maltosa	glucosa
Invertasa	sacarosa	glucosa y fructosa
Zimasa(y co-zimasa)	glucosa fructosa	alcohol + CO2
Rafinasa	rafinosa	melibiosa + fructosa.
Melibiasa	melibiosa	glucosa y galactosa.
Proteinasas	proteínas	proteosas, peptonas, péptidos.

La levadura también contiene los activadores necesarios para algunas de las enzimas, tales como el glutatión, que activa las proteinasas (46, 48).

### 2.2.2 Temperaturas de Trabajo

La temperatura más alta para que la actividad de la levadura sea óptima no debe exceder de 40°C. Su temperatura óptima está entre 22 y 29°C. Algunas tienen márgenes todavía más estrechos, pero para fines de panificación la zona mejor es de 24.5 - 27.8°C. Los sistemas de fermentación más largos, generalmente aplican temperaturas algo más bajas a la masa. Así: para un sistema de masa corriente de tres horas a temperatura de 27°C se añadiría 1.25% de levadura, mientras que solamente se necesitaría 0.45% del peso de la harina para un sistema de ocho horas con la masa a 24°C. La actividad de la levadura aumenta rápidamente con la temperatura y la cantidad a utilizar se reduce, por tanto, si la temperatura de la masa aumenta dentro de un proceso con tiempo fijo la cantidad de levadura utilizada es menor.

Para conservar bien, la levadura y suspender su actividad, debe guardarse a 7°C. A temperaturas superiores de 35°C se debilita su acción y a 60°C se destruye (4, 46, 48).

### 2.2.3 Clasificación de Levaduras

Podemos clasificar a la levadura en tres tipos:

- a) Levadura activa seca.
- b) Levadura seca instantánea.
- c) Levadura compresada o en pasta.

Si la levadura comprimida se mantiene a la temperatura ambiente, las células mueren pronto. Aun en el refrigerador, la levadura comprimida permanecerá fresca y las células viables sólo durante unos pocos días. Si la levadura fresca se congela y se mantiene de este modo, las células de la levadura vivirán y la pasta de la levadura permanecerá fresca durante 3 o 4 meses. La levadura seca activa en forma de pastilla puede mantenerse sin refrigeración durante varias semanas. El secreto de su estabilidad a la temperatura ambiente es que el contenido de humedad se ha reducido hasta aproximadamente el 8% en comparación con el 70% de la levadura en forma de pasta comprimida.

La levadura también se puede dividir, según su rapidez de acción en: rápida, media y lenta corresponden a levaduras de panificación, de destilería y de cervecería.

Las levaduras de panificación y destilación llevan a cabo una fermentación rápida a altas temperaturas, de modo que son adecuadas bajo todos los aspectos a los fines de panificación. Actúan de modo constante y son capaces de producir cantidades adecuadas de gas y "en fresco" tienen un sabor agradable y buen color (42, 46, 48).

#### 2.2.4 Requisitos de la Calidad de la Levadura

1) Fuerza:

Es la capacidad de gasificación que permite una fermentación vigorosa, la cual es necesaria para acondicionar la masa a través de todas las etapas del proceso.

2) Uniformidad:

La levadura debe producir los mismos resultados siempre que se empleen las mismas cantidades, permaneciendo las demás condiciones iguales.

3) Pureza:

Ausencia de la levadura silvestre o bacterias indeseables, para evitar fermentaciones que resulten perjudiciales para la calidad del pan.

4) Apariencia:

Una buena levadura debe tener color y sabor característico color gris azulado pálido y sabor fresco, libre de sabores extraños (42, 46, 48).

#### 2.2.5 Función de la Levadura en Panificación

La levadura realiza dos funciones en la masa: 1) produce gas, que esponja la masa y el pan formado; 2) ayuda a la maduración o acondicionamiento de la masa.

Mecanismo de producción de gas.

La levadura se incluye en la masa del pan debido a que, como las células metabolizan azúcares fermentables, bajo las condiciones anaeróbicas que prevalecen en la masa, producen bióxido de carbono como producto de desecho. Este producto de desecho del metabolismo de las células de la levadura, se utiliza en la masa como leudante. Las células de levadura son capaces de fermentar cuatro azúcares: glucosa, fructosa, sacarosa y maltosa; no puede utilizar el azúcar de la leche. Los cambios bioquímicos que tienen lugar cuando los



## 2.2.6 Requisitos Necesarios Para la Acción de la Levadura

- 1) Humedad. Sin agua no asimila ningún alimento
- 2) Azúcar. El azúcar utilizado por la levadura puede obtenerse de -- diferentes fuentes.
  - a) Azúcares preexistentes en la harina: La cantidad (0.5%) es -- insuficiente para poder asegurar la producción de gas.

Tabla de la composición de los azúcares existentes en la harina.

Porcentaje de los azúcares en la harina (42).

AZUCAR	PORCENTAJE %
Glucosa	0.01
Fructosa	0.02
Sucrosa	0.10
Maltosa	0.08
Melibiosa	0.18
Rafinosa	0.07

- b) Azúcares añadidos bajo forma de mejorante: Ellos deben ser directamente fermentables por la levadura ( azúcar, maltosa, etc)
  - c) Azúcares producidos por las diastasas de la harina: La harina contiene enzimas naturales alfa y beta -amilasas, que actúan los granos de almidón dañado después de la molienda -- del trigo; convirtiéndolo en maltosa y dextrinas.
  - d) Azúcares producidos por las enzimas añadidas: Harinas de malta alfa-amilasa y amilo glucosidas.
- 3) Materias nitrogenadas. La levadura necesita nitrógeno y lo toma de la proteína de la harina, de los alimentos minerales y de la malta.
  - 4) Minerales. La levadura requiere sales minerales para una actividad vigorosa, obteniéndolos de los alimentos para levadura y de la harina, agua, etc.
  - 5) Temperatura adecuada. A temperaturas superiores a 53°C, la levadura se destruye. El tiempo necesario depende de la especie de la levadura. Las levaduras de acción lenta se -- mueren más de prisa que las de acción rápida. A temperaturas por encima de 43°C, la actividad es afectada, -- dependiendo el efecto proporcionalmente al tiempo de exposición a tal temperatura ( 42, 43, 46, 48).

## 2.3 SAL

La sal es un ingrediente básico en panificación. Como tal, es un compuesto de cloro y sodio, denominado cloruro de sodio NaCl.

Hay en el mercado muchas sales preparadas; algunas tienen añadidas otras sales, tales como fosfatos, que actúan como nutriente para la levadura y que afectan también al gluten de la harina.

Las sales de mesa se obtienen añadiendo suficiente carbonato magnésico, que actúa sobre la sal corriente de forma que la mantiene en polvo. La sal iodada, con fines medicinales, se obtiene añadiendo pequeñas cantidades de yoduro sódico (46, 48).

### 2.3.1 Funciones de la Sal en Panificación

#### 1) Sabor

En primer lugar, da sabor al pan. Se agrega sal a la masa del pan para hacerlo agradable al paladar. Tiene la propiedad de resaltar otros sabores, de ahí que un pan sin sal o con poca sal resulte desabrido.

#### 2) Aspecto atractivo a la pieza.

Le confiere al pan terminado un aspecto atractivo. Algunas sales en la masa de levadura favorecen la acción de las amilasas y ayudan a mantener un aporte de maltosa como nutriente de la levadura, al existir azúcar residual ayudando así a obtener un pan con buena apariencia.

#### 3) Contracción y estabilización del gluten.

Contrae y estabiliza el gluten de la harina, facilitando así el conseguir una pieza bien formada, con miga que no se desmorone al corte. Produce endurecimiento del gluten, que es favorable sobre todo en el caso de harinas débiles.

La falta de sal se apreciará en la masa, ya que se ablanda y se vuelve pegajosa y su manejo puede ser difícil durante el proceso; la sal inhibe la acción de las proteasas de la harina.

#### 4) Frenar la actividad de la levadura.

En las fermentaciones prolongadas, impide que la levadura trabaje demasiado rápido y restringe la actividad de las bacterias acidógenas en la masa. En caso en que el pan se fabrique en zonas y épocas muy calurosas el uso de cantidades de sal mayores a las normales, ayudará a frenar la fermentación, aunque se debe tener cuenta que si el porcentaje empleado rebasa el 3.5% se obtiene un pan de calidad inferior y de sabor amargo.

5) Coadyuva a mantener la humedad de la pieza una vez que ésta ha salido del horno.

6) La sal tiene un efecto blanqueador en la miga, ya que facilita la obtención de un grano fino en el pan, que le da la apariencia de mayor blancura. El pan hecho sin sal tiene grano y textura inferiores ( 42, 46, 48, 50, 51, 52, 53).

## 2.4 AGUA

El agua es un compuesto de hidrógeno y oxígeno (H<sub>2</sub>O); indispensable en la panificación.

### 2.4.1 Tipos de Agua

1) Agua blanda.

Con pocos minerales, o sea, deficiente en iones Na, SO<sub>4</sub> y CO<sub>3</sub>. El agua blanda tiene como característica principal que produce mucha espuma.

2) Agua dura.

Tiene sales de calcio y magnesio. Puede ser permanentemente dura cuando estas sales son de tipo sulfato y cloruros y temporalmente dura cuando estas sales son de tipo bicarbonato debido a que precipitan carbonatos haciéndola hervir.

3) Agua salina.

Tiene sal en solución.

4) Agua alcalina.

Aquella que tiene sustancias alcalinas en solución.

En la siguiente tabla se da el efecto de cada una de las clases de agua en la masa y el tratamiento que se puede dar (48).

Diferentes tipos de agua en la masa (48).

TIPO DE AGUA	EFEECTO	TRATAMIENTO
Blanda	Ablanda el gluten, masa suave y pegajosa.	Utilizar alimentos para levadura o -- aumentar la sal en la fórmula.
Dura	En exceso endurece el gluten y retrasa la fermentación.	Utilizar más levadura o reducir el alimento de la levadura.

TIPO DE AGUA	EFEECTO	TRATAMIENTO
Salina	Sabor. En exceso debilita y retrasa la fermentación.	Reducir la sal en la fórmula.
Alcalina	Reduce la fermentación.	Utilizar más levadura y usar ácido acético.

#### 2.4.2 Efectos del Agua en Panificación

El agua usada en la masa debe tener una dureza mediana para proveer una cierta cantidad de sales minerales, que puedan impartir una acción endurecedora al gluten y que, hasta cierto punto, sirvan como alimento para la levadura.

Las aguas muy suaves producen por lo general masas flojas y pegajosas. Por otra parte la aguas excesivamente duras tienden a retardar la fermentación (46, 50, 52 ).

Por lo concerniente al agua como ingrediente, los sulfatos, especialmente de calcio, ejercen un efecto estimulante deseable sobre las levaduras, por lo que se le considera un componente estándar de los alimentos para levadura o acondicionadores de masa.

No todos los minerales que se encuentran en el agua tienen un efecto sobre la fermentación. Las sales de fierro, aluminio y varios otros elementos son completamente neutrales en lo que se refiere a la fermentación. Las sales que se presentan más comúnmente, como el bicarbonato de calcio, carbonato de calcio, sulfato de calcio, cloruro de magnesio, sulfato de magnesio y bicarbonato de sodio, tienen ya sea un efecto favorable o desfavorable sobre la fermentación. Por regla general, el sulfato de sodio y sulfato de magnesio no ejercen ningún efecto significativo sobre las características finales de la hogaza.

El cloruro de magnesio, cuando se encuentra presente en niveles de 50 pmm, produce masas más firmes y volúmenes mayores (52).

El carbonato de calcio y el bicarbonato de sodio tienen un efecto fuertemente depresivo sobre las levaduras en caso de presentarse en concentraciones suficientes para alcalinizar el agua.

Las aguas que contienen en solución sustancias alcalinas, si tienen un pH= 7-8, ayudan a neutralizar en parte la acidez de la masa originada por la fermentación. Pero debe evitarse también una alcalinidad excesiva, pH mayor de 8, ya que tiene un efecto solvente sobre el gluten (55, 46).

### 2.4.3 Funciones del Agua en Panificación

#### 1) Formación de la masa.

El agua juega un papel importante en la formación de la masa, ya que en ella se disuelven todos los ingredientes, permitiendo así una total incorporación. También hidrata los almidones; forma el gluten, al unir la gliadina y la glutenina, da como resultado una masa plástica, suave y elástica junto con el gluten y el almidón. El agua libre en la masa influye en su extensibilidad, si es mucha, la masa es pegajosa y muy suave; si es poca, se hace dura y se resiste al estiramiento. La consistencia de la masa influye en el grado en que las capas de gluten alrededor de las burbujas de gas resisten la presión del bióxido de carbono acumulado durante la fermentación y la presión de los gases expandidos durante el horneado. El volumen del pan y la textura del migajón también se ven afectados ( 42, 48, 58, 63).

#### 2) En la fermentación.

Para disolver como es debido la levadura. La levadura se difunde por toda la masa a través del agua de manera uniforme para que comience a actuar.

Para que las enzimas puedan actuar hace falta agua, que pueda difundirse a través de la pared o membrana que rodea la célula de la levadura.

El agua hace factible las propiedades de plasticidad y extensibilidad de la masa, de modo que pueda aumentar su volumen por la acción del gas producido en la fermentación ( 46, 48, 50, 58).

#### 3) En el sabor y frescura.

La presencia del agua hace posible la porosidad y buen sabor del pan. Una masa con poca agua daría un producto seco y quebradizo. Los almidones hidratados al ser horneados se hacen más digeribles. La corteza del pan es más suave y tierna por efectos del agua.

La humedad del pan le da una frescura característica, ya que la pérdida de agua vuelve al pan viejo y pesado.

La cantidad de agua que se requiere depende de la absorción de la harina y del tipo de masa (48).

Por todo esto el agua tiene una importancia especial dentro de la industria panificadora, y deben tomarse en cuenta sus cualidades, cuidando por medio de análisis, que no sea demasiado dura, suave o alcalina.

## 2.5 AZUCAR

El azúcar, es un hidrato de carbono o glúcido. Se clasifica en: monosacáridos, disacáridos y polisacáridos.

1) Monosacárido. Hidratos de carbono de molécula simple, muy pequeña. Ejemplo: dextrosa o glucosa, fructosa, levulosa.

2) Disacárido. Compuestos de hidrógeno, oxígeno y carbono, de moléculas grandes. Ejemplo: maltosa, sacarosa, lactosa.

3) Polisacáridos. Hidratos de carbono compuestos por moléculas simples unidas formando cadenas. Ejemplo Almidón, dextrina.

El azúcar de caña se utiliza, no sólo para mejorar el color y aspecto del pan, también para aumentar la producción gaseosa ( 46, 48).

### 2.5.1 El Azúcar en Panificación

Dentro de la técnica panadera es necesario hacer una distinción entre los azúcares preexistentes, azúcares producidos y azúcares añadidos.

1) Dentro de la harina los azúcares preexistentes totalizan alrededor del 1.5% del peso de la harina. Son del tipo mono y disacáridos.

2) Los azúcares producidos provienen de la transformación de una parte de los granos dañados del almidón de la harina en maltosa, por la acción de las alfas y beta-amilasas presentes en las harinas, suficientemente diastásicas. La maltasa, una enzima de la levadura, transforma enseguida la maltosa en glucosa.

3) Entre los azúcares añadidos a la masa, los más utilizados son la dextrosa o glucosa y la sacarosa.

### Efecto de azúcar en la levadura

La levadura es un ser vivo y por tanto se alimenta. Ella se nutre de azúcares, pero no puede absorber más que aquellos que tienen la molécula suficientemente pequeña.

Estos azúcares son los monosacáridos, que tienen la molécula muy pequeña y por lo tanto son directamente asimilables por la levadura. Ellos pueden pasar tal cual por la membrana de la célula con la ayuda de las permeasas, que son unas enzimas situadas en el exterior de la levadura.

Los disacáridos, debido a su tamaño, no pueden penetrar a través de la membrana celular, estos deben ser hidrolizados antes.

La maltosa es una excepción, puede penetrar sin modificación en la célula donde se transforma en dextrosa.

Los azúcares que pueden llegar a la célula de la levadura son la dextrosa y la fructosa. Ellos son transformados en dióxido de carbono y alcohol por medio de un grupo de enzimas de la levadura llamado zymasas.

La producción de gas debe ser óptima, pues condiciona el volumen final de los productos. Si no se añade azúcar a la masa, la levadura empieza a digerir los azúcares preexistentes en la harina.

La levadura debe esperar la producción de maltosa por las alfa y beta-amilasas a partir del almidón. Esto produce en la práctica un freno a la fermentación. Así pues la adición de azúcares directamente asimilables es beneficioso para un buen desarrollo de la fermentación (42, 48).

## 2.5.2 Concentración del azúcar en la fermentación

La fermentación es de alguna forma la digestión de la levadura. La adición de un exceso de azúcar frena la fermentación.

Efecto de azúcar en la fermentación:

En efecto, la sal y el azúcar aumentan la presión osmótica del agua de la masa al disolverse. Para restablecer el equilibrio entre ella y el medio en el que se encuentra, la célula de la levadura se concentrará para aumentar así su presión osmótica interna.

Hacer entrar más monosacáridos con ayuda de las permeasas no podrá ser una reacción suficientemente rápida. Para concentrar la célula de la levadura, ésta va a expulsar parte del agua que contiene.

Durante este fenómeno las moléculas de azúcar fermentables no vuelven evidentemente a entrar y la fermentación queda bloqueada.

La cantidad de agua expulsada por la levadura para equilibrar la presión osmótica puede ser tan importante que la levadura se desecue aún encontrándose en un medio acuoso (48).

### 2.5.3 Velocidad de fermentación en masas azucaradas.

En la masas muy azucaradas la fermentación se puede acelerar de la siguiente manera:

#### 2.5.3.1 Disminuyendo la sal.

Debido a que el peso molecular de un compuesto es inversamente proporcional a la presión osmótica, y como el peso molecular de la sal es 6 veces menor que el del azúcar, la supresión del 2% de sal se equilibra añadiendo un 12% de azúcar, en lo que concierne a tiempos de fermentación.

Se recomienda disminuir ligeramente la cantidad de sal en productos fuertemente azucarados. La fermentación será así, menos lenta.

#### 2.5.3.2 Añadiendo el azúcar al final del amasado.

La levadura que ha sido cultivada en un medio diferente, no se adaptan si se encuentra en una masa con un 15% de azúcar. Sin embargo, si al principio no se encuentra más que con los azúcares preexistentes, la levadura se organiza mejor. La fermentación será más lenta. El añadir el azúcar al final del amasado será pues beneficioso.

El azúcar se comporta en la masa como un líquido: cuando se añaden dosis crecientes de azúcar, se constata que ésta empieza a aflojar, pues pierde progresivamente su consistencia. El azúcar añadido al disolverse en el agua de la masa, juega el mismo papel que un componente líquido.

Se constata a través de pruebas hechas con el alveógrafo de Chopin que si la dosis de azúcar crece, la resistencia de la masa disminuye y su elasticidad aumenta.

Es pues necesario compensar la adición de azúcar con la disminución de agua en la masa. Pero sin retirar tanta agua como adición de azúcar, porque la masa queda apretada (48).

## 2.6 AGENTES MEJORADORES

Tanto los fabricantes de harinas como los panaderos se valen de numerosas sustancias como medio para mejorar el comportamiento de la harina en la panadería y para asegurar un rendimiento constante. La cantidad necesaria de estos mejoradores debe ser deducida por el fabricante de harina, como resultado de las pruebas de su laboratorio y del conocimiento de los trigos que ha utilizado. Sin

embergor, el panadero puede también querer adicionar este tipo de mejorardor, y como en este caso las cantidades son muy pequeñas, se venden las sustancias como productos patentados que llevan incorporadas otras sustancias químicas útiles. No obstante, estos productos solamente se deben utilizar cuando se conoce su composición, puesto que pueden contener sustancias ya presentes en la harina.

El utilizar agentes mejoradores o aditivos depende de la harina, y los factores que hay que tomar en cuenta son:

- 1) Tipo de trigo usado
- 2) Rendimiento de la harina
- 3) Condiciones de acondicionamiento y molienda
- 4) Tiempo de almacenamiento del trigo y la harina
- 5) Temperatura de almacenamiento de la harina
- 6) Cantidad de germen presente en la harina
- 7) Porcentaje de grasa en la harina
- 8) Activación o inhibición de las enzimas diastásicas y proteo--  
líticas (63).

Los productos mejoradores de la harina y/o del pan se clasifican en:

1) Aquellos que actúan sobre los pigmentos, y se les conoce como agentes blanqueadores: peróxido de benzoilo, peróxido de nitrógeno, etc.

2) Aquellos que actúan principalmente sobre la proteína y se les conoce como agentes maduradores: Fosfato ácido de calcio, bromato, ácido ascórbico, etc.

3) Aquellos que actúan sobre los dos , pigmentos y proteínas: Tricloruro de nitrógeno, cloro, bióxido de cloro, etc.

4) Los añadidos por el fabricante de harinas para cumplir la legislación en cuanto a requisitos de nutrición: cal, vitamina B1, ácido nicotínico, hierro, etc.

5) Los que se añaden como coadyuvantes de la fermentación: productos malteados, azúcar, cloruro amónico, amilasas de hongos, proteasas bacterianas.

6) Inhibidores de los hongos y organismos responsables de la viscosidad: ácido acético, propionato cálcico.

7) Emulsificantes. Gracias a estos productos, se puede lograr una mejor y más homogénea repartición de las grasas, se mejora la textura del pan, la miga es más flexible y retarda el endurecimiento: lecitina, monoestearatos de glicerina, ésteres parciales de glicerol, etc.

## 8) Enriquecedores:

- a) Grasas. Mejoran la apariencia, aumentan el valor alimenticio, mejoran la conservación, y el volumen.
- b) Leche. Da color, mejora la textura, mejor color de miga, mejora el sabor del pan, corteza más suave, aumenta el valor nutritivo, la absorción del agua y por lo tanto aumenta el rendimiento del pan.
- c) Huevos. Imparten al pan un color atractivo, sabor grato, proteínas adicionales a la estructura del gluten -- actúan como emulsificante, ayudan a esponjar el pan mediante la retención de aire y dan un aporte nutritivo (46, 48, 63).

## 2.7 ELABORACION DEL PAN

El proceso de elaboración de pan que a continuación se describe, está basado en la elaboración de pan de levadura.

### 2.7.1 Amasado

Una etapa fundamental en el proceso de la elaboración del pan es la preparación de la masa, para tal efecto se han ideado varios métodos, algunos de los cuales ya son utilizados y de otros solo han quedado partes de su técnica.

Fundamentalmente la preparación de la masa consiste en mezclar los ingredientes para dispersarlos homogéneamente, produciendo la hidratación de las moléculas de gliadina y glutenina que generan el gluten, así como la hidratación del almidón que absorbe aproximadamente el 40% del agua (50).

La transformación de harina de trigo en masa para pan es un complejo proceso todavía muy poco comprendido, como lo aseguran muchos de los científicos que han escrito al respecto. Cuando las partículas de harina se humedecen y luego amasan, se forma una masa coherente, cuyo carácter visco-elástico se atribuye al desarrollo de un complejo coloidal denominado gluten. Las proteínas de la harina participan en la formación del gluten en la masa para pan, pero otros constituyentes de la harina incluyendo lípidos, pentosanas solubles en el agua y glicoproteínas también participan. Además es necesaria la presencia del agua. La masa para pan contiene 40% o más de agua, de manera que la afinidad de la harina con el agua es grande. La harina y el agua comienzan a interactuar al momento en que se combinan. Cuando una gota de agua se pone en contacto con una partícula de harina en una laminilla bajo el microscopio, las capas

de proteínas que se separaron en fibrillas se observaron emergiendo de la superficie fracturada de las células del endospermo. Cuando se desprendan estas fibrillas de las células, transportando con ellas los gránulos de almidón, se unen para formar una red. Se supone que las moléculas de proteína pudieran depositarse en los cuerpos proteicos de las células del endospermo del trigo en una forma laminar en forma semejante a la de las moléculas del almidón dentro del gránulo.

Quando el agua se combina con la harina para formar masa, parte del agua está unida con los constituyentes de la harina, principalmente el almidón y la proteína. Las superficies expuestas, donde el agua puede hacer contacto con el almidón y la proteína de la harina, son muy grandes. La primera capa de moléculas de agua se absorbe firmemente. Sucesivamente, las siguientes capas se adhieren menos y menos firmemente hasta que el agua queda libre para fluir. La harina puede absorber o fijar firmemente poco más de una cuarta parte de su peso en agua. La masa que contiene sólo agua fija es rígida, inelástica y sin vida. Sólo aquella porción de agua que no se requiere para lograr la capacidad de hidratación de la harina, queda libre para contribuir a la movilidad de la mezcla de agua y harina. La relación óptima de agua a harina en la masa varía de acuerdo con la harina, ya que aquellas de trigos más duros tienen una mayor capacidad para retener agua. Es en este medio acuoso que la harina es convertida en masa para pan con propiedades reológicas deseables. La masa para pan es elástica. Cuando se estira, se recupera, en parte al momento y en parte lentamente. La masa para pan es viscosa y gradualmente fluiría de manera que se adaptará a los recipientes de cualquier forma. La elasticidad y la viscosidad se atribuyen al desarrollo del gluten. La masa también tiene un elemento de plasticidad, o sea, la fuerza que se necesita para iniciar el flujo. Los granos de almidón hidratados, que comprenden poco menos de la mitad del volumen de la masa con levadura, le confiere la cualidad plástica ( 42, 50).

#### 2.7.1.1 Desarrollo de Gluten

El gluten se desarrolla manipulando las partículas hidratadas de la harina. Amasar implica un estiramiento y doblamiento suave de la masa hidratada. El objeto es mover las pastas de las fibrillas unas con otras y alinearlas de manera que se unan en puntos estratégicos para formar el gluten. La pasta amasada a su nivel óptimo es elástica y firme, más que extensible. Estas cualidades son esenciales en la masa si se desea elaborar un pan de buena calidad.

Las harinas de trigos más duros requieren más manipulación y dan lugar a pastas que son más elásticas y extensibles que las harinas de trigos suaves.

Una vez que el gluten se desarrolla en una masa puede separarse de otros constituyentes de la harina, principalmente de los gránulos de almidón y los componentes solubles en agua, mediante el lavado en agua fría. Los gránulos de almidón que se adhieren al gluten se

desligan por el agua. La capacidad de la masa para retener gases y expandirse a medida que se acumulan, es debida al gluten. Los glútenes de diferentes harinas difieren en su capacidad para estirarse al aumentar la presión del gas atrapado en expansión. El gluten de las harinas adecuadas para pan de levadura es muy elástico y se expande más durante el horneado.

Cuando la masa se ha mezclado correctamente tiene un aspecto liso, se siente seca al tacto y es elástica. Las masas sobre mezcladas son en exceso flojas o fluidas, y las que no han sido mezcladas suficientemente tendrán una condición granular y pegajosa ( 42, 50, 54).

### 2.7.2 Fermentación

La fermentación de la masa es la consecuencia de las alteraciones producidas por la acción de las enzimas presentes naturalmente en la harina, por las sustancias añadidas a la masa como mejorantes y también por la levadura.

Fermentación es una designación general que abarca procesos aerobios y anaerobios realizados por microorganismos e incluyen la producción de alcoholes, ácidos y reacciones similares (46).

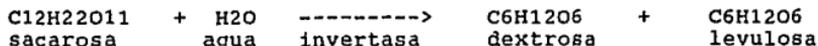
Las enzimas principalmente implicadas en la fermentación panaria son las que actúan sobre los carbohidratos: alfa-amilasa, beta-amilasa ( con frecuencia citadas ambas en conjunto con el nombre de diastasa en la harina) maltasa, invertasa y complejo zymasa en la levadura.

La fermentación aplicada a la masa del pan, se refiere a todos los cambios físicos y químicos producidos por la levadura. Físicamente estos cambios incluyen factores como la hidratación, la aereación y la modificación de la plasticidad de la masa, su elasticidad y extensibilidad.

Químicamente incluye cambios importantes en los carbohidratos y las proteínas, con la producción de etanol, bióxido de carbono y otras sustancias relacionadas (4, 55).

Las transformaciones principales a considerar son:

a) La inversión del azúcar de caña por la enzima invertasa.





Las bacterias butíricas trabajan a temperaturas ligeramente superiores a las lácticas, unos 40°C, de modo que estas bacterias no deben constituir dificultad en la fermentación de la masa.

### c) Fermentación acética

Las bacterias acéticas se diferencian de los dos grupos anteriores por trabajar mejor con gran exceso de aire. El Mycoderma aceti es considerado como el organismo más importante que transforma en ácido acético el alcohol estílico producido por la levadura en la fermentación normal. Siempre se produce algo de ácido acético en la masa.

Cuando la masa entra en el horno, una parte del alcohol se oxida a ácido acético, pudiendo reconocerse su olor en el vapor que sale del horno.

Si bien estas fermentaciones acídicas son favorables para el buen desarrollo de la elaboración del pan, se debe tener cuidado de que no se desarrollen intensamente ya que provocan efectos adversos en la calidad del pan.

La fermentación normal de la levadura ocurre cuando las masas se mantienen entre 25.6 y 29.4°C, siendo el rango más práctico entre 26.7 y 27.8°C. La actividad enzimática se inhibe a temperaturas menores y las temperaturas mayores favorecen la formación de ácido láctico. Las temperaturas altas también traen consigo la posibilidad de desarrollar ácido butírico que produce olores a mantequilla rancia. Estas condiciones de fermentación acídicas excesivas se controlan a través del uso de levaduras fuertes, tiempos y temperaturas de fermentación controladas ( 46, 48, 55).

#### 2.7.2.1 Fases de la Fermentación

Las diferentes fases de fermentación se definen de la siguiente forma:

##### a) Primer estado de fermentación

El gas carbónico producido por la fermentación comienza por disolverse en el agua de la masa hasta que está saturada.

Durante este tiempo el volumen de la masa aumenta. Esta disolución tiene por efecto aumentar la acidez del agua de la masa para llegar a un pH de 5 a 6. A este pH, las enzimas de la levadura se encuentran al máximo de su actividad. Lo mismo ocurre con las enzimas diastásicas que tienen una acción máxima en esta zona de pH.

Cuando se deja demasiado tiempo la masa fermentando, ocurren fermentaciones acídicas, estas fermentaciones abaten el pH hasta 3 y entonces aparece el fenómeno de proteólisis del gluten. La masa no tiene cuerpo y es impanificable.

#### b) Segundo estado de fermentación

Cuando el agua está saturada de gas carbónico, no retiene el gas que se expande en la masa. La masa comienza a hincharse, pues el gluten retiene el gas carbónico producido. Dependiendo de la calidad del gluten, la masa gana de más en más volumen.

#### c) Tercer estado de fermentación

La levadura continúa fermentando azúcares, pero el gluten ha llegado al máximo de su desarrollo.

Si la fermentación se prolonga demasiado, la masa es frágil, pierde su elasticidad y el producto final será pequeño, la corteza será pálida, pues todo el azúcar habrá sido fermentado y no podrá dar coloración a la corteza.

Si la fermentación es insuficiente, el pan será pequeño y la corteza fuertemente coloreada, pues el azúcar restante en la masa estará en cantidad demasiado grande (48).

### 2.7.3 Amasado y Moldeado

Después de que la masa se ha amasado, se debe manipular pero manejándola de tal forma que se evite el rompimiento de las bandas de gluten que han sido separadas por las burbujas del bióxido de carbono. Un objetivo de amasar la masa es evitar que las capas de gluten alrededor de la células de gas se sobre-estiren. Un segundo objetivo, es subdividir las células de gas que se han agrandado durante el periodo de fermentación. Trabajar la masa en esta etapa divide y aumenta el número de células de gas. Entre mayor sea el número de células de gas, mejor es la distribución del bióxido de carbono en la masa y más homogéneo el grano en el producto horneado. Aparentemente, el bióxido de carbono producido por las levaduras se colecta en las células de gas formadas en la masa al ser mezclada, amasada y moldeada. No se forman nuevas células de gas. A medida que la fermentación procede, las células de levadura utilizan los nutrientes de la vecindad inmediata. Amasar la masa renueva el aporte. También, si las células se han multiplicado, manipular la masa distribuye estas células más uniformemente en su totalidad. Durante la fermentación se produce calor, lo que es otra razón para trabajar la masa de la levadura y así igualar la temperatura. La masa es más caliente en el interior que en la superficie. Esta condición

no es tan notable con una pequeña cantidad de masa pero con gran cantidad, como en una panadería, la cantidad de calor involucrado es apreciable y significa que se debe hacer algo para disiparlo.

Cuando la masa se ha trabajado lo suficiente, está lista para moldearse. La masa es fácil de moldear si se le permite descansar durante unos cuantos minutos después de haber sido amasada. Para producir un pan con buen contorno la masa se debe manipular de forma que las bandas de gluten se hagan paralelas. El moldeo se debe hacer con un mínimo de rompimiento y apareamiento de las bandas de gluten (42, 53).

#### 2.7.4 Última Fermentación

Después de que la masa se ha moldeado y se encuentra en el recipiente de hornear, se fermenta por última vez, es decir, se permite que se esponje de nuevo, esta vez para que el producto horneado sea ligero. La temperatura de la masa al ser fermentada por última vez deberá ser cercana a 27°C, o posiblemente unos cuantos grados más arriba. La última fermentación debe terminar cuando la pasta de nuevo tiene aproximadamente el doble de volumen y cuando mantiene un ligera depresión si se golpea suavemente con un dedo (42).

#### 2.7.5 Horneado

La masa al entrar al horno tiene una temperatura aproximada a la que tenía en la cámara de vapor (35°C), se encuentra bien areada y no tiene señales de formación de corteza. La transmisión es gradual y provoca un aumento constante en la temperatura de la masa. Este incremento de temperatura acelera notablemente la actividad de la levadura causando una rápida producción de dióxido de carbono y la expansión de los gases de la masa.

La acción enzimática también se encuentra al máximo, produciendo una dextrinización rápida de todos los almidones, formación de maltosa y la modificación del gluten. La combinación de estos factores producen la expansión de la hogaza durante los primeros cinco a ocho minutos de horneado. Después de este período ha aumentado el calor dentro de la hogaza hasta el punto donde se mueren las células de la levadura, se destruyen las enzimas y coagulan el gluten, previniendo una expansión posterior. Todas estas reacciones se producen dentro de los primeros minutos de horneado. La capacidad de las capas de gluten para retener los gases es importante en esta etapa. A medida que las burbujas de gas se expanden, los gránulos de almidón son orientados en las capas de proteína que los encierran. El gluten cohesivo que forma un límite para las burbujas de gas, proporciona un lustre sedoso a las células del pan.

Conforme la temperatura interior de la masa se acerca a los 49°C el dióxido de carbono que existe en la porción líquida de la masa se libera incrementando la presión sobre las células existentes y causando su expansión. La expansión de volumen en la masa se ve incrementada por el CO<sub>2</sub> que produce rápidamente la levadura, hasta que ésta alcanza su punto de muerte térmica a 60°C.

El incremento del volumen de la masa en el horno es más rápido cuando el interior de la hogaza se aproxima a los 60°C, luego de lo cual se reduce la expansión. Al acercarse la masa a esta temperatura, comienza la translocación del agua de las proteínas, haciendo posible la gelatinización del almidón. La integridad estructural, que en la masa depende de las proteínas principalmente, se cambia durante el horneado al almidón gelatinizado en el pan. El horneado convierte una espuma elástica y algo móvil, en migajón de pan rígido pero deformable. Una buena masa de ligereza óptima, se expande precisamente antes de asentarse y las células comienzan a perder gas para dar unas paredes celulares muy delgadas y un grano fino en el producto horneado. La temperatura en la masa se debe elevar lo suficientemente rápido para detener la producción del bióxido de carbono por la levadura, para inactivar las enzimas amilasas que reblandecen la masa y para asentar el migajón de manera que las células comiencen a perder gas antes de que la sobreinflación de la espuma arruine el grano y la textura del pan.

La expansión continuará hasta los 74-79°C, con la coagulación del gluten de la masa.

Al término de este periodo inicial, comienza la formación de la corteza y se desarrolla el color, los azúcares se caramelizan bajo la influencia del intenso calor y alto contenido de humedad, así mismo participan en la reacción de Millard, dando como resultado el encafecimiento de la corteza. La temperatura alta también dará lugar a una evaporización considerable del contenido de humedad proveniente del pan que se hornea, provocando disminución del volumen y una pérdida de peso.

El horneo se considera completo cuando la temperatura máxima del centro de la hogaza alcanza alrededor de 99°C. Con temperaturas de horneo adecuadas, el pan en esta etapa tendrá un color de corteza café dorado y estará uniformemente cocido (42, 59, 60).

En la siguiente tabla se dan las reacciones efectuadas durante el proceso de cocción (61).

TEMPERATURA	REACCIONES EFECTUADAS
35°C	Aumentan: la absorción del agua el almidón, la producción de CO <sub>2</sub> y la actividad enzimática.
41°C	Principia la gelatinización del almidón.
45°C	Prosigue la gelatinización y se retarda la fermentación de la levadura.
52-60°C	Prosigue la actividad de las enzimas, aumenta la presión del CO <sub>2</sub> .
60°C	Se coagulan las proteínas y finaliza la fermentación.
71°C	se evapora el alcohol.
80°C	Termina toda actividad enzimática. Caramelización de la maltosa.
91°C	Fin de la gelatinización de almidón.
100-121°C	Formación en la corteza de dextrinas de color amarillo pálido.
121-141°C	Formación de las dextrinas cafés.
130°C	Caramelización de la lactosa.
149-204°C	Formación de sustancias de color oscuro, provenientes de dos fuentes caramelización de los azúcares y --reacción de Millard.

#### 2.7.6 Envejecimiento del Pan

Una vez que el pan ha salido del horno, empieza a sufrir el fenómeno de envejecimiento (staling). Este fenómeno se ha definido como un conjunto de características de origen no microbiano, que hacen que por medio de cambios en la textura de los productos de panificación, sean éstos cada vez menos aceptables por el consumidor.

El endurecimiento de la miga del pan, no es cuestión de sequedad. La causa básica descansa en el cambio lento del almidón, a temperaturas inferiores a 55°C, desde una forma amorfa a otra cristalina que recoge considerablemente menos agua que la primera. Esta variación conduce a un rápido endurecimiento y a la retracción de los gránulos de almidón, separándose del esqueleto de gluten con el que están asociados, son el consiguiente desmoronamiento. El endurecimiento se puede impedir si se guarda el pan a temperaturas superiores de 55°C o inferiores a - 20°C.

Como la parte amilosa del almidón se insolubiliza durante la cocción o durante el primer día de almacenamiento, que considera que el endurecimiento es debido a la agregación con devolución de calor de la parte amilopectina del almidón. Sin embargo, la cristalización del almidón no puede dar cuenta de toda la firmeza de la miga que se produce a temperaturas por encima de 21°C, se ha propuesto que se produce una migración de humedad desde la proteína al almidón produciendo la rigidez de la estructura del gluten y contribuyendo a la rigidez de la miga.

El empleo de surfactantes ha venido siendo cada vez más generalizados en la industria de la panificación, por su efecto retardador del envejecimiento de pan obteniéndose muy buenos resultados ( 1, 4, 12, 33).

### III ENZIMAS UTILIZADAS EN LA ELABORACION DE PAN

#### 3.1 GENERALIDADES SOBRE ENZIMAS

Las enzimas son catalizadores capaces de aumentar la velocidad de reacciones químicas específicas. Son moléculas proteicas muy especializadas, elaboradas por las células a partir de aminoácidos sencillos. Estas son, por lo tanto, responsables directas de todas las transformaciones bioquímicas que ocurren en la célula, siendo no sólo agentes naturales de cambio en alimentos sino potenciales catalizadores para su transformación o producción ( 1, 44, 64).

Cada enzima solamente puede catalizar un tipo específico de reacción química. Se conocen en la actualidad casi 2000 enzimas diferentes. Los enzimas superan notablemente a los catalizadores confeccionados por el hombre en su especificidad reactiva, su eficacia catalítica y su capacidad de actuación en condiciones suaves de temperatura y de concentración de iones hidrógeno.

Las reacciones catalizadas enzimáticamente tienen lugar con un rendimiento del 100 %, y no hay subproductos. Debido a que las enzimas pueden acelerar una sola transformación de una molécula determinada, sin inducir ninguna otra de sus posibles reacciones, los organismos vivos pueden llevar a cabo, de modo simultáneo, muchas reacciones individuales diferentes sin perderse en un mar de subproductos inútiles.

La actividad de algunas enzimas dependen solamente de su estructura como las proteínas, mientras que otros necesitan, además uno o más componentes no proteicos, llamados cofactores. El cofactor puede ser un ión metálico, o bien una molécula orgánica llamada coenzima, algunos enzimas necesitan de ambos. Los cofactores son generalmente estables frente al calor, mientras que muchas proteínas enzimáticas pierden la actividad por calefacción. El complejo enzima-cofactor catalíticamente activo recibe el nombre de holoenzima. Cuando se separa el cofactor, la proteína restante, que por si misma es inactiva catalíticamente, se designa con el nombre de apoenzima.

Proteína (apoenzima)	+	No proteína (cofactor) vitaminas, mine- rales, compues-- orgánicos.	----->	Holoenzima
-------------------------	---	---	--------	------------

Los coenzimas actúan, por lo general, como transportadores intermediarios de grupos funcionales, de átomos específicos o de electrones, los cuales son transferidos en la reacción enzimática global. Cuando la coenzima se haya unido íntimamente a la molécula de la enzima recibe, normalmente, el nombre de grupo prostético.

Debido a la naturaleza protéica de las enzimas, les afectan los mismos factores que a las proteínas: temperatura, disolventes, sales, pH, etc; que modifican su estructura química con la consecuente pérdida de actividad catalítica. Normalmente la fracción no proteica es parte integral del centro activo de las enzimas. Entre los minerales más importantes que actúan como cofactores se encuentran los siguientes: cobre, molibdeno, zinc, magnesio, hierro, manganeso y calcio; la tiamina, la nicotinamida, el piridoxal, el ácido pantoténico y la riboflavina son algunas de las vitaminas más comunes (1, 64, 65).

### 3.1.1 Especificidad

La gran mayoría de las enzimas tienen la capacidad de catalizar reacciones específicas; es decir, su intervalo de acción se limita a un determinado tipo de sustrato que debe reunir ciertas características para que pueda ser utilizado como tal. La especificidad de las enzimas es una propiedad que las hace muy diferentes a muchos catalizadores no biológicos, y que se ha dividido en cuatro grandes grupos: a) especificidad estereoquímica; b) baja especificidad; c) especificidad de grupo, y d) especificidad absoluta. La primera se refiere a que normalmente las enzimas utilizan D o L isómeros como sustrato. La especificidad baja se presenta cuando las enzimas atacan un determinado tipo de enlace químico sin importar la naturaleza del sustrato. Las enzimas con especificidad de grupo actúan sobre un sustrato que contiene un determinado enlace y un grupo químico específico al lado de dicho enlace. Finalmente, la especificidad absoluta es la más común, y consiste en que la enzima utiliza una sola y muy específica sustancia como sustrato.

Los estudios de especificidad de sustrato de las enzimas, muestran que las moléculas del sustrato reflejan en general, por el principio de complementariedad, la estructura del centro activo de la enzima mediante dos rasgos distintivos estructurales: 1) el sustrato debe poseer un enlace químico susceptible que pueda ser atacado por la enzima; 2) generalmente posee otra característica estructural necesaria para efectuar su unión al centro activo de la enzima, probablemente para situar la molécula del sustrato en la adecuada relación geométrica de modo que el enlace susceptible pueda ser atacado (1, 64).

### 3.1.2 Clasificación

Las enzimas se clasifican en seis grandes grupos:

- 1) Oxidorreductasas. Catalizan reacciones de oxidorreducción.
- 2) Transferasas. Catalizan reacciones de transferencia de grupos.
- 3) Hidrolasas. Catalizan reacciones hidrolíticas.
- 4) Liasas. Ruptura de un enlace sin participación de agua; se efectúa por un rearrreglo interno de las valencias disponibles.
- 5) Isomerasas. Catalizan reacciones que suponen isomerización.
- 6) Ligasas o sintetasas. Catalizan reacciones que consisten en la --- unión de dos moléculas, acopladas con la intervención de un enlace pirofosfato de ATP o de un trifosfato similar.

### 3.1.3 Catálisis Enzimática

Las enzimas catalizan reacciones biológicas, y al igual que otros catalizadores, influyen en la velocidad a la cual se obtiene el equilibrio, pero no afectan el equilibrio global de la reacción. La enzima tiene la capacidad de efectuar la reacción química a través de una ruta que requiere de una menor energía libre de activación que la necesaria cuando se efectúa sin catalizador.

La potencia catalítica de una preparación enzimática se mide en términos de unidad que son definidas arbitrariamente. Con el fin de uniformar esta medición, se ha utilizado la unidad internacional de actividad enzimática, definida como la cantidad de enzima que se requiere para transformar en producto una micromol de sustrato por minuto, en las condiciones de pH y temperatura óptimas para cada enzima. La concentración de sustrato deberá ser tal que la enzima se encuentre actuando con velocidad máxima, lo que, equivale a las condiciones de saturación.

En algunos casos, la dificultad de caracterizar el sustrato obliga a utilizar otras definiciones de unidad: la actividad específica se define como las unidades de actividad de la enzima en relación con la cantidad de proteína en miligramos; es decir, cuanto más pura sea una enzima, habrá un mayor porcentaje de actividad por miligramo de proteína (1, 65).

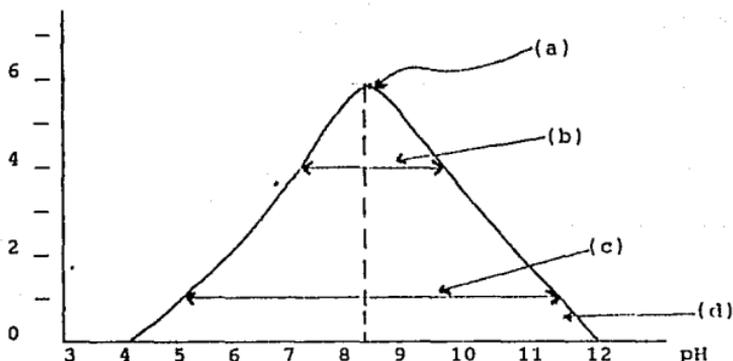
La velocidad de una reacción enzimática depende principalmente de la concentración de enzima, y cuando el sustrato está en exceso, existe una proporcionalidad lineal entre dicha velocidad y la concentración de enzima.

## Efecto del pH

La actividad de las enzimas depende mucho de la concentración de iones hidrógeno del medio; esta dependencia puede deberse a cambios en los grados de ionización de los aminoácidos del sitio activo de la enzima, del sustrato, o bien del complejo enzima-sustrato, lo que afecta la afinidad que tiene la enzima por el sustrato. En algunos casos los sustratos no son ionizables, como por ejemplo los carbohidratos, por lo que los grupos iónicos de las enzimas son los únicos afectados por el pH. Además, el pH tiene un efecto muy marcado en la estructura conformacional de los polipéptidos, y esto puede ser otra razón de la alteración de la actividad de las enzimas. Todas las enzimas presentan una actividad catalítica máxima a un cierto valor óptimo de pH por encima o por debajo de ese pH la actividad disminuye; la mayoría tiene una actividad máxima en un intervalo de 5 a 8 (1, 64).

En la siguiente figura se muestra el efecto del pH en la actividad enzimática (1).

velocidad  
de reacción



En donde a) pH óptimo, b) intervalo de estabilidad de la enzima, c) intervalo de inactivación reversible, d) inactivación instantánea.

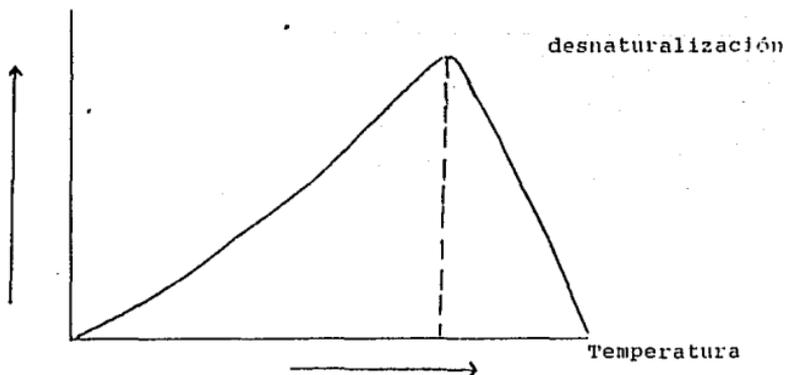
## Efecto de Temperatura

Como sucede con la mayoría de las reacciones químicas, la velocidad de reacción enzimática aumenta con la temperatura dentro del intervalo en el que la enzima es estable y retiene su capacidad catalítica; a medida que aumenta la temperatura aumenta también la velocidad de reacción y la inactivación de la enzima por un proceso de desnaturalización al que son sensibles la mayor parte de ellas. Los incrementos de temperatura muy grandes afectan más rápidamente la inactivación de la enzima y su poder como catalizador. Debido al balance de estos dos factores, cada enzima presenta un óptimo de temperatura en el que las reacciones se efectúan a una velocidad máxima; la mayoría tiene su óptimo en el intervalo de 30 a 40°C, inactivándose a más de 50°C. En caso de que las condiciones de reacción de la enzima se alejen de la temperatura óptima, la enzima pierde su capacidad catalítica en un proceso que puede ser reversible o irreversible según la temperatura final que se alcance.

La aparente temperatura óptima es, la resultante de dos procesos: 1) el incremento habitual de la velocidad de reacción con la temperatura, y 2) el incremento en la velocidad de desnaturalización térmica de la enzima al sobre pasar una temperatura crítica. Aunque la mayoría de las enzimas se inactivan a temperaturas comprendidas entre 55 y 60°C, algunos de ellas son completamente estables y conservan su actividad a temperaturas superiores (1, 64, 65).

En la siguiente figura se muestra el efecto de la temperatura en la actividad catalítica de las enzimas (1).

Actividad  
enzimática



Las temperaturas bajas también pueden modificar la actividad enzimática. En términos generales, las enzimas pueden actuar aun a 0-10°C, aunque a temperaturas menores se inicia el congelamiento del alimento, lo que trae consigo una modificación de la estructura proteica de la enzima; las enzimas conservan su actividad después de descongelarse, según la intensidad y la forma en que se hizo su congelamiento. Durante el congelamiento se pueden formar dentro del alimento zonas en donde se concentran las sales y las sustancias de bajo peso molecular junto con algunas proteínas; en estas zonas la fuerza iónica es muy elevada y puede inducir la desnaturalización de las proteínas. La velocidad a la que se efectúa el congelamiento tiene un efecto muy importante en la estabilidad de la mayoría de las proteínas; los puentes de hidrógeno se favorecen a temperaturas bajas por lo que la enzima puede interaccionar más fácilmente con moléculas similares o bien con agua, lo que ocasiona que el sitio activo se pueda modificar (1).

#### Efecto de la Actividad de Agua

La mayoría de los biopolímeros requieren de agua para desarrollar una conformación estable con propiedades biológicamente activas; sin embargo, algunas enzimas pueden actuar en sistemas con un mínimo de agua, como los aceites que están sujetos a reacciones enzimáticas por las lipasas.

El agua que requieren las enzimas para su actividad debe estar en forma disponible, y por lo tanto la utilización del factor actividad de agua es más indicativo que el de contenido de agua. Los alimentos se deshidratan para evitar el crecimiento microbiano; sin embargo, la actividad de muchas enzimas perdura aun en estas condiciones. Los vegetales y frutas deshidratadas están sujetos a varias reacciones de deterioro cuando no se inactivan sus enzimas con un tratamiento térmico de escaldado. Estas reacciones suceden ya que el sustrato está en contacto muy directo con las enzimas (1, 65).

#### Efecto de Agentes Inhibidores y Activadores

Los principales agentes inhibidores de las enzimas son los metales pesados como mercurio, plata y plomo; por otra parte, los iones de calcio, magnesio, sodio, potasio, manganeso, zinc y hierro actúan como agentes activadores de muchas otras. El efecto activador de los iones se debe probablemente a que forman parte del sitio activo de la enzima, se requieren para la formación del complejo enzima-sustrato o bien ayudan a mantener su conformación tridimensional. los cationes son generalmente necesarios para un mejor funcionamiento de las enzimas (1).

### 3.1.4 Sitio Activo

El sitio activo de una enzima es aquella porción de aminoácidos de la proteína que participa en el proceso catalítico; es decir, el sitio activo está formado por ciertos aminoácidos que forman un microambiente catalizador dentro de la propia molécula del polipéptido. No todos los aminoácidos intervienen en la reacción enzimática, ya que en la mayoría de los casos solo unos cuantos son responsables de está función, y por lo tanto es posible en algunas ocasiones eliminar parte de la cadena de proteína sin que la enzima pierda su actividad. Las enzimas adquieren su poder catalítico cuando presentan una estructura secundaria y terciaria muy específica, de tal manera que los aminoácidos componentes del sitio activo se encuentran vecinales formando dicho microambiente (1, 65).

### 3.1.5 Producción de Enzimas

Las enzimas pueden ser obtenidas por extracción de tejidos de organismos superiores diferenciados ( células animales y vegetales) o por fermentación con microorganismos uni y pluricelulares. La tendencia industrias actual es el reemplazo de enzimas de origen microbiano. Esto último obedece a una mayor productividad, consecuencia de la extraordinaria velocidad metabólica de los microorganismos, a la facilidad comparativa de su manipulación ambiental y genética y a la factibilidad de escalamiento del proceso productivo a nivel industrial.

Las enzimas microbianas pueden ser intracelulares o bien ser excretadas al medio por el microorganismo que las produce. Las enzimas de biosíntesis son característicamente intracelulares, mientras que las catabólicas son generalmente excretadas. Lo anterior es de alta relevancia tecnológica por cuanto la ruptura de células microbianas para la extracción de enzimas intracelulares es un proceso de alto costo y de difícil escalamiento a nivel industrial. No es sorprendente, en consecuencia, que las enzimas comerciales sean fundamentalmente enzimas degradativas, extracelulares y que no requieren de coenzimas disociables para la expresión de su actividad. Este es, casi sin excepción, el tipo de enzimas empleadas comercialmente en la industria alimentaria (1, 44).

Las enzimas pueden ser comercializadas como productos sólidos o líquidos, estabilizados mediante la adición de agentes protectores y normalizados en cuanto a su actividad específica. Los preparados sólidos poseen, normalmente una mayor estabilidad de almacenamiento, pero son de mayor costo. Contra ellos ofrece ciertas desventajas en cuanto a una manipulación sanitaria.

### 3.1.6 Uso Industrial

Las enzimas son empleadas en la industria alimentaria, como agentes de transformación, en dos tipos de procesos:

1) En aquellos altamente controlados, donde el objetivo único del proceso es la eficiente conversión bioquímica catalizada por la enzima.

2) En aquellos en la que la enzima tiene el carácter de aditivo, siendo su objetivo mejorar ciertas características del producto al que es adicionada. En este caso las condiciones de proceso están determinadas por factores ajenos a la presencia de la enzima, por lo que su acción es difícilmente predecible y el grado de utilización de su capacidad catalítica es, por lo general, bastante pobre.

La Industria utiliza diferentes enzimas comerciales para la manufactura o el procesamiento o de gran número de alimentos y la tendencia actual en la producción, tanto de alimentos como de materia prima para su elaboración. Las ventajas son la siguientes:

- a) Son de origen natural, y por lo tanto no son tóxicas.
- b) Son muy específicas en su forma de acción, por lo que efectúan reacciones que de otra manera serían difíciles.
- c) Funcionan en condiciones moderadas de temperatura y pH, por lo que no se requieren condiciones drásticas que puedan alterar la naturaleza del alimento, ni equipo muy costoso.
- d) Actúan a bajas concentraciones y su velocidad de reacción puede controlada al ajustar el pH, la temperatura y la concentración de la enzima.
- e) Son fácilmente inactivadas después de haber alcanzado el cambio deseado.

La fuente más común de enzimas comerciales son los microorganismos, aunque también hay enzimas provenientes de tejidos vegetales y animales. Las enzimas microbianas presentan más ventajas ya que los microorganismos pueden crecer rápidamente en condiciones, de manera que es posible la producción de muchas enzimas en grandes cantidades ( 1, 44, 65).

En la siguiente tabla se dan unas de las enzimas más empleadas en la industria alimentaria (44).

ENZIMA	ORIGEN	USO INDUSTRIAL
<b>HIDROLASAS</b>		
Alfa y beta - amilasa	vegetal	cerveceria, licores
Alfa amilasa	microbiano	edulcorante, confitería, panificación, cerveceria
Glucoamilasa	microbiano	edulcorante, cerveceria
Celulasas	microbiano	frutícola, aceitera
Invertasa	microbiano	edulcorantes, confitería
Pepsina	animal	panificación, quesería, hidrolizados proteicos
Proteasa fungal	microbiano	panificación
Proteasa bacteriana	microbiano	panificación
<b>OXIDO REDUCTASAS</b>		
Glucosa-oxidasa	microbiano	alimentos deshidratados, bebidas, alimentos formulados
Catalasa	microbiano	láctea
<b>ISOMERASAS</b>		
Glucosa-isomerasa	microbiano	edulcorantes

### 3.2 ENZIMAS CONTENIDAS EN EL PAN.

El trigo, y por lo tanto la harina derivada de éste tienen 4 tipos importantes de componentes: almidón, proteínas, polisacáridos no propios del almidón y lípidos; que pueden ser modificados por enzimas y por lo tanto tienen influencia en la masa y el acabado del pan. El grano de trigo y otros granos de cereales los cuales son usados como fuente de harina para propósito de panificación contienen un número de enzimas naturales que son esenciales para la germinación y el crecimiento. Por lo que las enzimas están presentes en la misma harina, en la levadura y finalmente algunas enzimas suplementarias se pueden añadir a la masa para su mejoramiento. Estas enzimas son - siempre muy importantes en el proceso de panificación, lo cual no podría ser posible sin éstas (22, 24, 67).

La concentración endógena de enzimas en el grano depende en gran medida de las circunstancias climatológicas durante el crecimiento del cereal. Altos niveles de humedad en los granos casi maduros conducen a la germinación, causando una verdadera explosión de actividad enzimática en el endospermo del grano. Durante el molido del cereal a harina la mayoría de las enzimas sobreviven. A pesar de todo ello, el tipo y/o nivel de enzimas de harina indígena, no es siempre suficientemente alto para producir un buen pan (66).

Las enzimas que podemos encontrar en el pan, ya sea porque son parte del metabolismo del trigo o porque están contenidas en la levadura son:

Enzimas del trigo:

#### A) Diastasa.

Se encuentra en cantidades apreciables en los embriones del trigo; es de gran importancia durante la germinación del grano, ya que durante este proceso es cuando se despliega su actividad. En condiciones adversas de recolección de trigo puede ocurrir que éste germine; entonces, la diastasa entra en una gran actividad y, si se obtiene harina de trigo en estas condiciones, se observará que tienen un alto contenido diastásico.

La diastasa consta de dos componentes: alfa-amilasa y beta-amilasa. La acción de la diastasa consiste en: 1) licuación del almidón y 2) degradación a maltosa y dextrinas. La acción de la alfa-amilasa es la de producir dextrinas y maltosa, mientras que la de la beta-amilasa es producir maltosa.

La harina de trigo normalmente, contiene beta-amilasa en cantidad suficiente, no así de alfa-amilasa por lo que es recomendable suplementarla con esta enzima (46, 68). Durante el crecimiento del grano de trigo, la cantidad de alfa amilasa decrece, sin embargo, durante la germinación la alfa-amilasa aumenta aproximadamente mil veces (trigo malteado). La cantidad de beta-amilasa incrementa rápidamente a través del crecimiento del trigo; la beta-amilasa total es siempre constante durante la germinación y solo al final de este periodo de germinación hay un aumento de beta-amilasa pero que no excede del 50% (2, 41).

Las amilasas se encuentran concentradas en el escudete del grano de trigo; se han encontrado cantidades pequeñas de amilasas en el endospermo, pero que incrementa hacia las porciones externas de éste. Así la primera capa de células que contienen almidón contiguo a la células de la aleurona son particularmente ricas en amilasa (41).

El contenido bajo de alfa-amilasa en la harina de trigo, produce resultados desfavorables: el residuo que queda después de la acción de la beta-amilasa sobre la amilopectina, conocido como dextrina límite beta, se dice que tiene un efecto depresor en el volumen del pan y en el esponjamiento en el horno; y, más importante, la producción de gas en las últimas etapas de la fermentación es inadecuada por la escasez de azúcares sobre los cuales actúa la levadura (46).

#### B) Proteinasas o Proteasas.

Son enzimas que actúan sobre las proteínas y sus derivados. En la fermentación de la masa tienen un papel en la maduración del gluten. Los productos de malta tienen una cantidad de enzimas proteolíticas, y por esta razón es por lo que se utilizan como coadyuvantes en la maduración de las harinas fuertes. También por esta propiedad de los trigos germinados es por lo que la harina de estos trigos da masa que pierden estabilidad a medida que fermentan.

Las proteasas del trigo se encuentran: en la vaina y en el endospermo que contienen muy poca actividad proteolítica al inicio y en la germinación; el escudete y el embrión muestran un rápido incremento de enzimas durante la germinación; la aleurona tiene una relativa actividad enzimática (41, 46).

El trigo sano aún sin germinar tiene cierta actividad proteolítica. La cantidad de proteasa encontrada en las diferentes fracciones del grano decrece en el siguiente orden: salvado < salvadillo < trigo de germen, < harina de segunda < harina de primera.

Es importante durante la molienda del trigo eliminar el germen de la harina ya que su presencia puede acarrear una excesiva proteólisis en la misma lo cual es perjudicial en algunos tipos de productos. Carvajal estudió el efecto producido al agregar germen de trigo a una harina fuerte. El germen había previamente sido desprovisto de grasa y molido y produciendo un descenso en el volumen del pan de 864 cc. a 675 cc. cuando se agregó al nivel del 15% (2).

#### C) Lipasa.

Se encuentra en el germen de trigo y es la responsable del enranciamiento de las materias crudas y de los productos obtenidos con ellas. La actividad de las lipasas tanto en el trigo como en la harina es indeseable debido a la rancidez que favorece en períodos prolongados de almacenamiento. En general esta actividad está

limitada por el contenido de humedad de la harina lo que hace a éste tipo de deterioro poco frecuente (41, 55).

De acuerdo con Pett el esculeto del trigo contiene 3.5 o 4 veces más actividad que el cotiledon y que el endospermo, de 4 a 5 veces más que el hollejo, y en la célula de la aleurona una porción del germen tiene de 10 a 20 veces más actividad que el endospermo (41).

#### D) Fitasa.

La fitasa cataliza la hidrólisis de ácido fítico a inositol y orto-fosfato libre. Acido fítico el cual contiene más del 70 a 75% del total del fosforo del trigo, formando sal insoluble con varios metales interfiriendo en la asimilación del calcio y del hierro en la nutrición de humanos y animales. Niveles muy altos de fitato pueden causar deficiencia de magnesio.

La cantidad de fitasa incrementa en la germinación, los trigos fuertes tienen cerca del 20% mas de fitasa que los trigos suaves. La enzima tiene un pH óptimo de 5.15 y una temperatura óptima de 55°C. La enzima es inhibida completamente por sal de magnesia (4, 41, 46).

La acción de la fitasa, es la reducción del contenido de ácido fítico en el pan y otros alimentos del cereal. Moran y Pringle determinaron el efecto del tiempo de fermentación en la destrucción del ácido fítico en las masas y encontraron el 59, 64 y 76 % de hidrólisis en el pan horneado después de 3, 5 y 8 hrs de fermentación (41).

#### E) Lipoxidasa.

La lipoxidasa cataliza la peroxidación en ciertas grasas polinsaturadas por oxígeno molecular. La enzima se encuentra siempre en el trigo.

La actividad lipoxidasa en el trigo es la siguiente: en el esculeto 87 unidades/gramo, en el embrión 75 U/g, en el endospermo 2 a 3 U/g. La actividad en el trigo molido decrece (41).

#### F) Catalasa.

Es una hemoproteína la cual cataliza la descomposición hidrógeno-peroxidasa a agua y oxígeno. Es una función fisiológica en las plantas no muy bien definida. Esta puede prevenir la acumulación de hidrógeno peróxido, la enzima causa un par de oxidaciones en alcoholes bajo condiciones apropiadas. En algunas variedades de trigo se ha visto un fuerte actividad de catalasa.

El pH óptimo de la catalasa es de 7.3 y es inhibida por cianida y grandes concentraciones de sustrato, la temperatura óptima es de 20- 25°C (41).

#### G) Peroxidasa.

Es una hemoproteína, cataliza la oxidación de un número de aminas y fenoles aromáticos, y junto con la catasa puede clasificarse como hidroperoxidasa. El pH óptimo es de 4.6 -4.8 (41).

El trigo contiene una gran variedad de enzimas, ya que estas son las encargadas de llevar acabo su metabolismo. Anteriormente se dieron las enzimas más importantes del trigo que influyen en la elaboración del pan. Sin embargo, están presentes en el trigo más enzimas ( de las cuales no se tiene mucha información aún) que por no tener importancia en panificación no se mencionarán.

Enzimas contenidas en la levadura:

#### A) Invertasa.

Está presente en la levadura y es capaz de desdoblar la sacarosa en una mezcla de dextrosa y levulosa, que se llama azúcar invertido.

Esta enzima está localizada en la superficie de la célula y la sacarosa se desdobla en cuanto se encuentra en las condiciones requeridas(46).

#### B) Maltasa.

Desdobla la maltosa en dos moléculas de glucosa, parece estar localizada en las regiones mas profundas de la célula de levadura y, por tanto, la maltosa ha de penetrar en el interior antes de que se pueda desdoblar, mientras que la sacarosa reacciona en la superficie.

#### C) Zymasa.

Convierte el azúcar en anhídrido carbónico y alcohol. La zymasa no es la única responsable de la producción de gas en la masa, sino que es probablemente el resultado de la acción de 14 enzimas y coenzimas. Por lo que se suele hablar del complejo zymasa (46).

### 3.3 ENZIMAS UTILIZADAS PARA MEJORAR LAS PROPIEDADES REOLOGICAS DEL PAN.

Debido a que las enzimas contenidas en la harina son insuficientes para obtener un pan de buena calidad, se empezó añadir enzimas a la harina para suplementar a las enzimas naturales o para remediar deficiencias en la materia prima, así como, para dar una característica específica a la harina o al pan. Estas enzimas se obtienen de hongos y bacterias con actividades selectivas.

En la actualidad hay una gran variedad de enzimas que se pueden agregar a la harina con el objeto de obtener un pan con mayor volumen; mejor miga, sabor y volumen; alargando al mismo tiempo su vida de anaquel.

#### 3.3.1 AMILASAS

##### 3.3.1.1 Generalidades.

Las enzimas amilolíticas o amilasas son de cuatro diferentes tipos y se diferencian entre ellas por la manera en que hidrolizan los enlaces químicos del almidón: las alfa y betas amilasas atacan los enlaces glucosídicos alfa(1-4), las glucoamilasas los alfa(1-4) y alfa(1-6), y finalmente el grupo de la amilopectina-1-6-glucosidas hidrolizan exclusivamente los enlaces alfa-(1-6). De todas estas las más importantes son la alfa y beta-amilasa. Ambas amilasas se encuentran comúnmente en plantas y semillas en estado de germinación; sin embargo, sólo la alfa se ha encontrado en animales; las amilasas de la saliva y del páncreas son amilasas típicas de origen animal (1,2).

Las alfa- amilasas son endo enzimas, hidrolizan las uniones alfa-(1-4), localizadas en las regiones intermedias del sustrato, liberando productos de tamaño variable. Las beta-amilasas son exoenzimas, existiendo sólo una unión glucosídica en la molécula de almidón, susceptible a la beta amilasa, que es la penúltima unión del lado no reductor de las cadenas. La beta amilasa ataca por lo tanto enlaces 1-4 a ambos lados de enlaces 1-6 ( que originan las ramificaciones) de una manera ordenada produciendo beta maltosa y oligosacáridos con enlaces 1-6 y su acción cesa cuando se aproxima a los puntos de ramificación de la amilopectina. La alfa amilasa hidroliza, de forma desordenada, las cadenas largas, atacando enlaces internos alfa-1,4 glucosídicos y originando fragmentos cortos denominados dextrinas (1,26,43).

Todas las amilasas son inactivadas irreversiblemente con concentraciones altas de ácidos o álcalis, o con altas temperaturas. Son solubles en agua o en soluciones iónicas muy diluidas, y en soluciones etanólicas diluidas. En presencia de concentraciones

salinas y etanólicas elevadas, precipitan de manera que se pueden volver a activar, cuando se disuelven en agua.

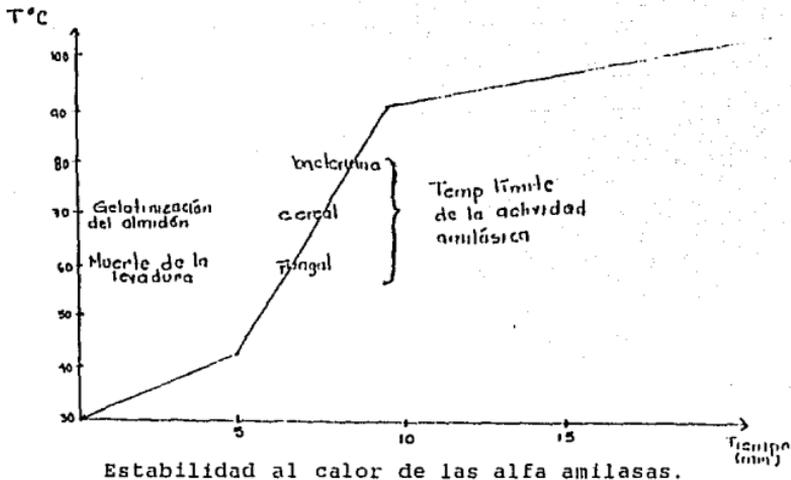
La actividad de cualquier amilasa depende de un gran número de factores. La velocidad de reacción puede o no ser influenciada por las sales, productos de rompimiento de proteínas, lípidos, etc; y por activadores o inhibidores específicos. Muchos de los llamados activadores, funcionan ya sea incrementando la solubilidad de las amilasas o aumentando su estabilidad. El pH óptimo para su acción, e depende de la duración y la temperatura de la reacción para cualquier amilasa específica. Si la temperatura de reacción se eleva lo suficiente para causar una inactivación progresiva de la enzima, el pH óptimo aparentemente se elevará gradualmente. El pH óptimo de las amilasas animales es entre 6-7, de plantas 6-5 y de microorganismos entre 4.5-5.5 ( 23,26,41,65).

La relación entre la actividad amilolítica y la temperatura es otro factor muy importante, a rangos de temperatura bajos, la velocidad de conversión se duplica al elevarse la temperatura en 10°C. A medida que la temperatura aumenta, la velocidad de reacción disminuye hasta que se llega a un punto la velocidad ya no cambia aunque cambie la temperatura. La temperatura óptima para amilasas animales es 37-40°C, planta 60°C, microorganismos 70°C (dependiendo el microorganismo) (26,37,65).

#### Alfa -amilasas.

Se han cristalizado alfa-amilasas de varios orígenes; se ha comprobado que son metaloenzimas, que contienen metales bivalentes, en general calcio o cinc. Cuando la alfa-amilasa actúa sobre un sol de amilosa, se observa una rápida disminución de la viscosidad, con escaso incremento de la concentración de grupos reductores. Es una endoenzima que hidrolisa la amilosa, produciendo maltosa y algo de D-glucosa. La alfa-amilólisis de cadenas largas es un proceso al azar, aunque puede existir cierta preferencia en cuanto al lugar de ataque cuando el sustrato al lugar de ataque cuando el sustrato contiene cadenas más cortas. Cuando se somete la amilosa a la acción prolongada de la alfa-amilasa, la mayor parte de ella se transforma en glucosa y maltosa, y sólo un pequeña porción quede como una mezcla de polisacáridos de cadena corta que no sufre una ulterior hidrólisis. Esta mezcla recibe el nombre de dextrina límite alfa de la amilosa. La incapacidad de la alfa-amilasa para hidrolizar este tipo de dextrina límite se explica por la presencia de ramificaciones, residuos de hexosas oxidadas o unión que no sean alfa-1-4 (2,37,40).

Las alfa-amilasas pueden ser de origen microbiano, fungal o provenir de la malta. La diferencia entre estas tres es su estabilidad al calor. La amilasa fungal es la menos termoestable y la alfa-amilasa bacteriana es la más termoestable (22).



La alfa-amilasa de la malta y bacteriana continúan actuando sobre el almidón después de su punto de gelificación, lo que produce un exceso de dextrinas, produciendo una miga pegajosa y una estructura débil del pan. La alfa-amilasa fungil no tiene gran problema ya que se inactiva antes de que el almidón se gelatinice. Las preparaciones comerciales de alfa-amilasa fungil son usualmente obtenidas del *Aspergillus oryzae*, estas enzimas tienen un bajo contenido de proteasas que son estandarizadas con una actividad alfa-amilásica (22,67).

La actividad alfa-amilásica es muy intensa durante la maduración del grano, encontrándose, en este periodo, en las capas externas del grano. Más tarde la actividad disminuye muy rápidamente, y en el grado maduro se detectan niveles muy bajos.

En el proceso de panificación, la acción amilásica se inicia en el momento en que se mezclan los ingredientes que constituyen la masa panaria, y cesa cuando las enzimas se desnaturalizan por el calor, durante la cocción del pan. Las alfa-amilasas son más estables que las betas-amilasas, a las temperatura de cocción. La actividad amilásica es importante en el proceso, por cuanto proporciona maltosa para la fermentación por la levadura. Una harina con un elavado contenido de alfa-amilasa da un alto contenido de dextrinas, debilitando y haciendo pegajosa la masa. Por el contrario, una harina con muy poca actividad de alfa-amilasa da una corteza pálida y poca quebradiza, y en las últimas fases de la fermentación pueden faltar azúcares y, por lo tanto, CO<sub>2</sub>, debido a que no se producen cadenas cortas que la beta amilasa pueda escindir en maltosa. El color de la corteza y el sabor son mejorados por la acción de la alfa-amilasa como resultado de la formación de azúcar y por la formación de los productos de Maillard.

Cuando el pan envejece, el agua migra de la miga a la corteza del pan y la miga se hace firme y pierde suavidad, esperando la

recristalización del almidón, este fenómeno es llamado envejecimiento y puede ser retardado por el uso de alfas-amilasas que hidrolizan las cadenas de almidón (22,43).

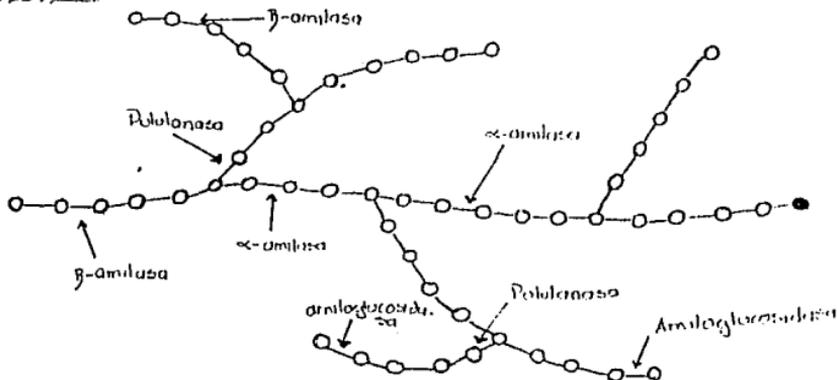
#### Beta-amilasa.

Se halla casi exclusivamente en los vegetales superiores. Es una exohidrolasa. El producto de la beta-amilólisis de la amilosa es principalmente maltosa, aunque también aparece algo de glucosa que proviene del extremo no reductor de las cadenas que contienen un número impar de residuos, y algo de dextrina. En el caso de la amilopectina, la acción de la beta-amilasa hidroliza sólo las cadenas externas de la amilopectina, dejando intacto un gran núcleo de molécula de polisacárido, delimitando por lo puntos de ramificación. Este residuo se llama dextrina límite B-amilasa para la amilopectina(22,40,46,65).

La beta-amilasa se encuentra en exceso en la harina de trigo, por lo que no se agrega beta-amilasa a la harina.

#### Amiloglucosidasa

Es otra enzima capaz de actuar sobre el almidón que puede hallarse en los hongos. Al igual que la beta-amilasa es una exohidrolasa, pero ataca la última unión glucosídica en el extremo no reductor de la cadena, liberando glucosa en lugar de maltosa. A diferencia de las maltasas, las amiloglucosidasas hidrolizan no sólo las uniones alfa-1-4 sino también las uniones alfa-1-6 y alfa-1-3, aunque a mucho menor velocidad. Por lo tanto las amiloglucosidasas son capaces de desramificar dextrinas límites. Pueden hidrolizar pequeños glucanos y aun maltosa, aunque la velocidad de reacción es muchas veces superior en el caso de los polisacáridos más largos (40,46,65).



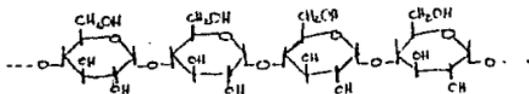
Acción de las amilasas sobre el almidón.

### 3.3.1.2 Sustrato.

Los hidratos de carbono representan el 65-90% del peso de los granos de cereales. El componente principal es el almidón, otros componentes importantes de la fracción hidratos de carbono son las hemicelulosas, la celulosa y los azúcares libres. Las amilasas tienen como sustrato el almidón.

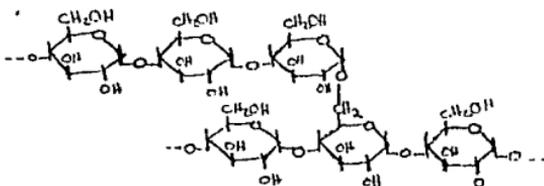
El almidón es una mezcla de glucanos, pues el gránulo de almidón es un sistema heterogéneo que consiste principalmente en dos compuestos distintos:

1) La amilosa: que es esencialmente un polímero lineal; en la cual todas las unidades de D-glucosa se encuentran unidas por medio de uniones glicosídicas alfa(1-4). Las cadenas son polidispersas y varían en peso molecular, la amilosa no es completamente soluble en agua, sino que forma micelas hidratadas, en las cuales se enrolla la cadena polisacárida, formando una figura espiral.



Porción de la molécula de amilosa.

2) La amilopectina: que es un polímero muy ramificado, la magnitud de su cadena es de unos doce residuos de glucosa. Las uniones glicosídicas en la cadena son alfa-1-4, pero los puntos en que ocurre la ramificación, las uniones son alfa-1-6.



Porción de una molécula de amilopectina.

El gránulo de almidón consiste generalmente en variías capas, colocadas alrededor de una región central llamada núcleo. No se conoce el origen de estas capas. Se cree que estas estructuras se deben a la presencia de microcristalitos, formados principalmente por cadenas laterales cortas del componente amilopectina. El almidón en su forma granular natural, posee una alta densidad, y muestra un alto grado de empaquetamiento dentro del gránulo; es así que el gránulo de almidón puede soportar cierto esfuerzo mecánico y es prácticamente insoluble en agua fría. Si se aumenta la temperatura, sin embargo, el gránulo absorbe agua y aumenta de volumen. La fase inicial de hinchamiento es reversible, y el gránulo puede secarse y retorna a su tamaño original. A medida que se sigue aumentando la temperatura, continúa el hinchamiento hasta que los cristales se funden. En este punto, se dice que el almidón ha alcanzado la etapa de gelatinización. Finalmente el el gránulo se desintegra y el almidón pasa a solución. Estas etapas son irreversibles.

El almidón de trigo empieza a gelificar a una temperatura de 60-71°C . En el proceso de cocción el hinchamiento de almidón es incompleto, debido a que hay muy poca agua para la cantidad de almidón presente (para gelificación completa de un peso dado de almidón se necesita varias veces su peso de agua). No obstante hay varias alteraciones importantes. El almidón toma agua del gluten, entonces, la actividad de la alfa-amilasa aumenta fuertemente, pues esta enzima degrada fuertemente los gránulos de almidón gelificados mucho más rápidamente que los gránulos de almidón crudo ( 40,46).

#### Propiedades de la amilosa y de la amilopectina.

La unión glucosídica alfa-1-4 es bastante flexible. La forma de las moléculas de amilosa en solución acuosa es primariamente la de espirales al azar. Algunas partes de la cadena pueden consistir en segmentos helicoidales cortos, inestables y transitorios. Cuando se enfría la solución de amilosa, se forma un gel. El gel se forma por fusión termorreversible en ciertos puntos de las cadenas de amilosa, mientras que el resto de la cadena conserva su configuración al azar. Los puntos de fusión entre las cadenas son probablemente uniones de hidrógeno, formadas en regiones donde las cadenas se acercan suficiente. El agua queda inmovilizada dentro de la estructura tridimensional formada por las cadenas. Sin embargo, si se enfría lentamente una solución de amilosa, o se se deja envejecer su gel, las moléculas de amilosa se alinean en una forma relativamente ordenada, desarrollandose micelas insolubles, densas y altamente cristalinas. Este fenómeno recibe el nombre de retrogradación.

La amilopectina posee una viscosidad intrínseca, por su estructura ramificada y su alto peso molecular. Los soles de almidones ricos en amilopectina, forman pastas espesas. La solidificación de éstas en forma de geles rígidos es un proceso muy lento que requiere algunos días. La amilopectina retrograda muy lentamente, si es que lo hace. En una mezcla de amilosa y amilopectina, la retrogradación de la amilosa se ve inhibida por la

presencia de la amilopectina. Sin embargo, se ha sugerido que se la retrogradación de las cadenas laterales cortas de la amilopectina la causa principal del endurecimiento del pan (37,40,67).

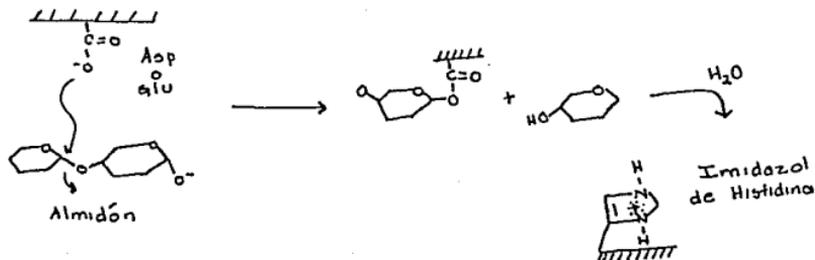
El almidón tiene una función específica durante la mezcla, la etapa de fermentación y la etapa de horneado. Durante la mezcla, el almidón y el gluten se unen por medio de fuerzas electrostáticas relativamente fuertes. Aunque el almidón sirve para diluir el gluten a una consistencia deseable, los dos componentes bioquímicos contribuyen al mezclado y a la masa producida. Los gránulos de almidón dañados son particularmente importantes para la operación de mezclado. Estos gránulos son dañados físicamente como resultado de la molienda de trigo a harina. Estos gránulos toman agua adicional resultando en un aumento de absorción. Cierta cantidad de gránulos dañados es beneficioso para la producción de pan, sin embargo, una cantidad excesiva puede resultar en pan de menos volumen y características inferiores. además de aumentar la absorción, los gránulos de almidón dañados son susceptibles a un ataque de enzimas durante la fermentación por enzimas amilasas, resultando en la producción de azúcares fermentables. En la etapa de horneado, cuando se coloca una masa dentro del horno las propiedades de gelificación del almidón empieza a trabajar. La gelificación parcial del almidón, que empieza en esta etapa, junto con la desnaturalización del gluten. Con el calor y la cantidad limitada de agua, empieza la gelatinización limitada del almidón. En esta etapa, el ataque enzimático sobre el almidón gelificado se acelera hasta alcanzar la temperatura de inactivación (11,19,33,45).

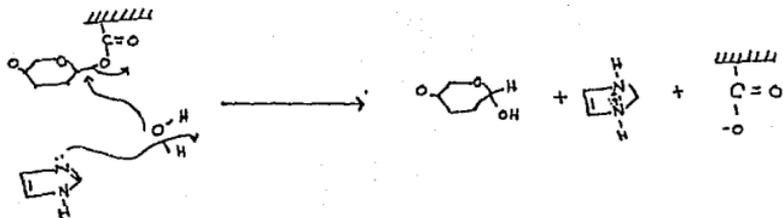
### 3.3.1.3 Mecanismo de acción.

En general la acción de las hidrolasas sobre el gránulo de almidón íntegro es extremadamente lento, pero, la destrucción enzimática del almidón gelatinizado resulta mucho más veloz.

#### 1) Mecanismo de acción de la alfa-amilasa.

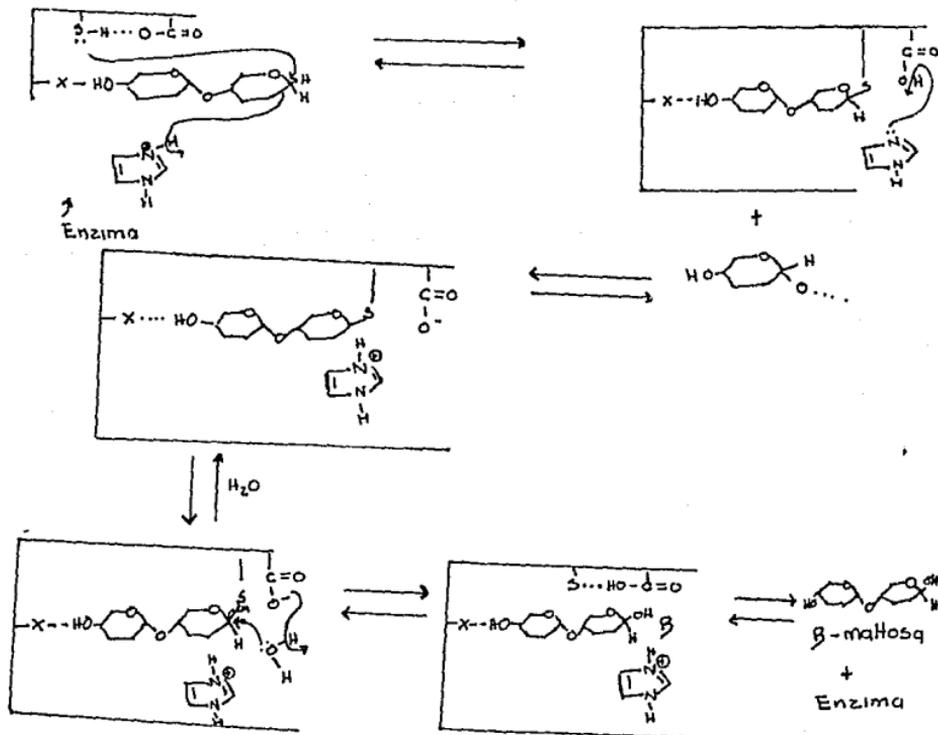
Hay dos sitios activos: el grupo carboxílico de la asparagina y el imidazol de la histidina.





## 2) Mecanismo de acción de la beta-amilasa.

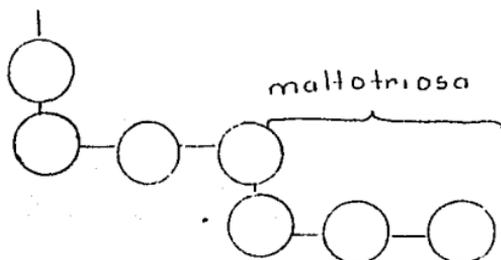
Se han encontrados 4 sitios activos. Se sabe que se forma un enlace de hidrógeno entre la enzima y al almidón en la posición 1-4 por el extremo no reductor.



### 3.3.2 PULULANASA

La pululanasa es una glucosidasa específica para las uniones alfa-(1-6), actúa sobre el pululano que es un polisacárido consistente de maltosios unidas por enlaces alfa-1-6, conocida también con el nombre de alfa-1-6 amilasa ya que actúa sobre los enlaces alfa-1-6 en puntos de ramificación del polisacárido. Estas enzimas pertenecen al grupo de las amilopeptina-1-6-glucosidasas hidrolizan el enlace alfa-1-6 del glucógeno y de la amilopeptina en una forma al azar, con la consecuente producción de cadenas lineales de polisacáridos de diferente longitud. Las amilopeptina-1-6-glucosidasas se dividen en dos clases principales que dependen de su especificidad por el sustrato: pululanosas e isoamilasas. La diferencia estriba en que las pululanosas hidrolizan los enlaces alfa-1-6 de la maltotriosa, mientras que las isoamilasas no tienen ninguna acción sobre este trisacárido.

Las pululanosas comerciales se obtienen de microorganismos como *Aerobacter aerogenes*, *Escherichia intermedia* y *Streptococcus mitis* y tienen la capacidad de hidrolizar la amilopeptina y las dextrinas límites. La pululanasa vegetal más importante es la que se le conoce con el nombre de enzima R, cuya acción en forma conjunta con la beta-amilasa produce altas concentraciones de maltosa a partir de almidón (1,22,40).



Sección del pululano.

Se ha propuesto recientemente usar esta enzima junto con la alfa-amilasa bacteriana como un agente antienviejecedor, pero se corre el riesgo de una sobre dosis de amilasa bacteriana lo que provocaría un pan con miga y estructura pegajosa. El uso comercial más importante de las pululanosas es en la producción de maltosa o jarabes altos en maltosa, ya que estos tienen muchas ventajas sobre los de glucosa y son muy adecuados en la manufactura de helados, dulces, mermeladas y otros(1,22).

### 3.3.3 HEMICELULASA/PENTOSANASA

#### 3.3.3.1 Generalidades

Las hemicelulasas, por lo tanto las pentosanases son enzimas derivadas de hongos, y animales que digieren madera. Su acción depende del sustrato sobre el que actúa. Su pH óptimo está entre 3.5 a 3.5 y su temperatura óptima es de 50 a 60°C. Son inhibidas por altas temperaturas como a 80°C.

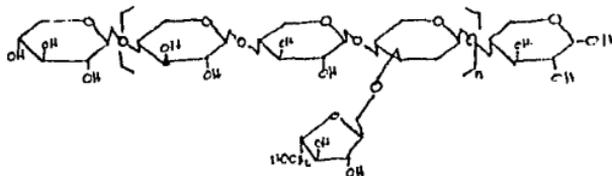
#### 3.3.3.2 Sustrato

EL sustrato de estas enzimas es la hemicelulosa. Se conoce con el nombre de hemicelulosas a los polisacáridos, distintos del almidón, solubles en soluciones alcalinas concentradas. También denominadas como pentosanases. No obstante, el término de pentosanases se aplica generalmente a las hemicelulosas solubles en agua.

Las hemicelulosas constituyen un componente fundamental de las paredes celulares, la mayoría poseen estructura amorfa, actuando como cemento, pero algunas poseen estructura fibrilar. Por hidrólisis, estos hidratos de carbono dan lugar a pentosas ( xilosa, arabinosa), hexosas ( glucosa, manosa, galactosa) y ácidos urónicos (galacturónico y glucurónico), principalmente.

Los azúcares más abundantes en las hemicelulosas de los granos enteros de cereales son la D-xilosa y la L-arabinosa. En general las hemicelulosas de los cereales se caracterizan por la presencia de restos de l-arabinosa enlazados, como cadenas laterales monomoleculares, a una cadena principal constituida por moléculas de D-xilopiranosas. Normalmente, las cadenas laterales se enlazan por la posición 3 de la D-xilosa, pero en algunos casos restos de ácidos urónicos se encuentran enlazados en las posiciones 2 ó 3 (40,43).

La mayoría de las hemicelulasas son heteropolisacáridos que contienen dos o más monosacáridos diferentes. Algunas hemicelulosas consisten en una cadena principal de homoglicano (D-xilanos y D-mananos) con otros residuos de azúcares. Los componentes de la cadena principal se encuentran generalmente unidos por uniones glucosídicas alfa- (1-4).



Estructura típica de la hemicelulosa soluble en agua del endospermo del trigo (43).

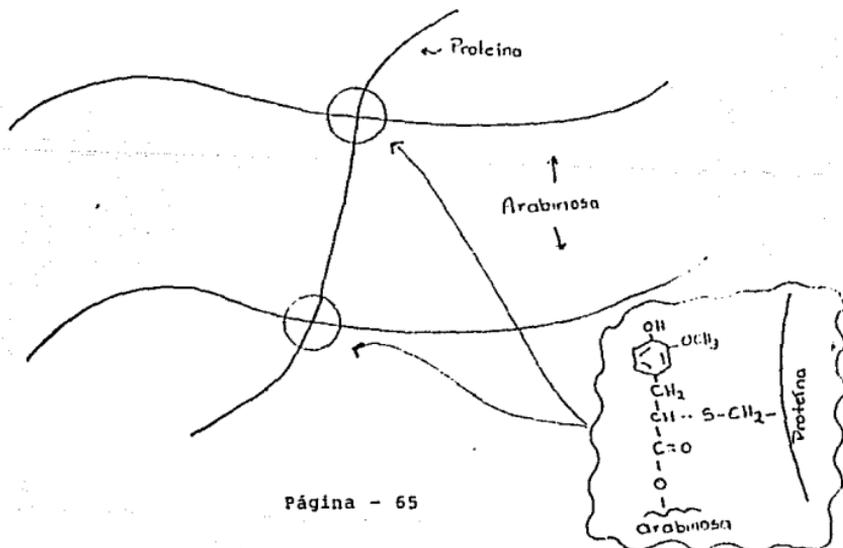
La harina de trigo contiene un 2-3 % de hemicelulosas, de las cuales el 0.5-0.8 % es soluble en agua, compuesta practicamente por arabinosa, xilosa y fracciones de glicoproteinas. Las hemicelulosas insolubles en agua de la harina de trigo poseen una estructura muy similar a las solubles, pero con mayor grado de polimerización, estas hemicelulasas están compuestas principalmente por glicoproteinas, con abundante D-glucosa (13,32,43).

### 3.3.3.3 Mecanismo de acción.

Una propiedad importante de la pentosana es la habilidad para formar un gel. Una hipótesis propone que la formación de un gel es causado por enlaces cruzados entre la pentosana y la proteína formando una red en la masa.

Durante los últimos 20 años investigadores ha tratado de clarificar la influencia de las pentosananas en las propiedades del pan, pero este ha sido muy complejo y los resultados han sido algo contradictorios. Una opinión es que una modificación en la pentosana puede mejorar la tolerancia de la masa, mejorando el volumen y retardando el envejecimiento(22).

A continuación se da una esquema del mecanismo de la gelificación oxidativa. Donde se aprecia los enlaces cruzados que se forman entre la pentosana y la proteína (22).



### 3.3.4 CELULASAS

#### 3.3.4.1 Generalidades.

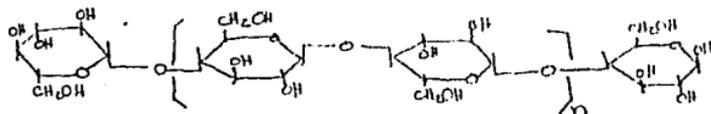
La celulasa no es solo una enzima, es un sistema de enzimas que rompen enlaces beta-(1-4). Son enzimas obtenidas de animales, hongos y bacterias que digieren madera. Su pH óptimo es 5.5-6.0 y su temperatura óptima es de 35 a 55°C. Los activadores de esta enzima son: cisteína, colorantes ácidos; los inhibidores son: iones de metales pesados.

Las enzimas que comprenden al sistema de las celulasas son: beta-1-4 glucanasa y la beta-1-4 glucosidasa. La beta-1-4 glucanasa rompe los enlaces beta-1-4 del polímero formando disacáridos llamados celobiosa y otros trisacáridos, existen exo y endoglucanasas (49.65).

Las celulasas comerciales provienen del *Aspergillus niger* y *Trichoderma viride* y atacan a la celulosa produciendo celodextrinas y glucosa(1).

#### 3.3.4.2 Sustrato

La celulosa es un polímero lineal de unidades de D-glucosa, ligadas por uniones beta-(1-4), como en la celobiosa.



grupo terminal  
no reductor

unidad de celobiosa

grupo terminal  
reductor

Sección de la fórmula estructural  
de la celulosa.

La celulosa abunda en el pericarpio y en el germen de los cereales, como constituyen estructural de las paredes celulares. La celulosa es el constituyente principal de la fibra; bajo esta denominación se incluye el conjunto de hidratos de carbono no digeribles por ácido clorhídrico e hidróxido de sodio en caliente, y constituyen el 1-4 % en peso, de los granos.

La unión glucosídica beta-(1-4) confiere a la molécula de la celulosa una configuración extendida y rígida que se aproxima a la de segmentos lineales rectos. La celulosa puede ser hidrolizada a cadenas más cortas de oligosacáridos, y finalmente a celobiosa y glucosa. La hidrólisis ácida requiere altas temperaturas y también altas concentraciones de ácido. La hidrólisis enzimática es catalizada por las celulasas (40,43).

### 3.3.4.3 Mecanismo de acción.

Hay tres tipos de celulosa:

- 1) Celulosa nativa.- Como se encuentra en la naturaleza: algodón, papel, madera, plantas, etc. No puede ser hidrolizada por la beta-1-4 beta glucanasa ni por la beta-1-4 glucosidasa.
- 2) Celulosa soluble.- Es la que se ha sometido a un pretratamiento, por lo que es más soluble; y puede ser hidrolizada por la beta-1-4 glucanasa.
- 3) Celulosa hidrolizada en sacáridos pequeños y polisacáridos principalmente celobiosa; es hidrolizada por la beta-1-4-glucosidasa

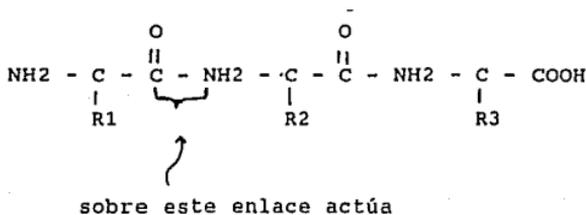
En el Tridoderma verde, existen una celulosa llamada factor FC1 que no degrada nada, solo rompe enlaces de hidrógeno de la celulosa nativa (65).

celulosa nativa	-----> Celulosa soluble	-----> Celobiosa -
	FC1	Beta-1-4 glucanasa
	-----> B-glucosa	
	Beta-1-4 glucosidasa	

### 3.3.5 PROTEASAS

#### 3.3.5.1 Generalidades.

Las proteasas se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, llevando acabo una cantidad considerable de reacciones hidrolíticas, actuando sobre la unión peptídica de una proteína (5,65).



Las proteasas se clasifican en:

- a) Endopeptidasas (llamadas proteinasas) atacan en el interior de la cadena.
- b) Exopeptidasas (llamadas peptidasas) atacan los extremos de la cadena de proteína. De las cuales pueden haber dos tipos:
  - 1) Carboxipeptidasas; atacan el extremo del carboxilo.
  - 2) Aminopeptidasas; atacan el extremo amino.

Otra clasificación de enzimas, está basada en el grupo principal de transformación en el sitio activo y se dividen en 4 clases:

#### A) Proteasas del grupo de serina.

Tienen en común que el grupo principal de transformación es el OH de serina.

#### B) Proteasas del grupo sulfhídrico.

El grupo principal de transformación es el sulfhídrido de cisteína.

#### C) Proteasa de ión metálico.

El metal es un grupo implicado en la transformación.

#### D) Proteasa de grupos ácidos.

Mínimo tienen que tener un grupo COOH implicado en la transformación.

Hay muchas proteasas microbianas que no se conocen suficientemente para conocer que grupo está implicado en el sitio activo, y por lo tanto, se clasifican según su pH óptimo: 1) proteasas ácidas, 2) proteasas neutras y 3) proteasas alcalinas.

La mayoría de las proteasas tienen especificidad por los grupos funcionales (carboxilo o amino) de los aminoácidos que forman la proteína. Algunas proteasas no respetan la especificidad y pueden hidrolizar tioésteres, aminas primarias y ésteres; como la papaina, tripsina, quimiotripsina (5,65).

Las proteasas aumentan la extensibilidad y viscosidad de la masa; la intensidad de este cambio en las características plásticas de la misma dependen de la concentración y del tipo de enzima, así como condiciones de temperatura y pH (2).

Cuando las proteasas se encuentran en niveles bajos en la harina para pan, la suplementación es esencial. Pero el nivel de proteasas agregado deber ser cuidadosamente controlado para evitar la producción de un pan pegajoso y con poco volumen.

Las proteasas que se adicionan a la harina pueden ser:

##### 1) Proteasas fungales.

Estas enzimas son obtenidas del *Aspergillus Oryzae* y contienen actividad endo y exopeptídica. Las endopeptidicas hidrolizan los enlaces internos peptídicos del gluten, modificando las propiedades de viscosidad y elasticidad de la masa; las exopeptidasas liberan aminoácidos libres que pueden interactuar con el azúcar en el proceso de panificación contribuyendo al sabor y color de la corteza a través de reacciones de Millard. Usando el nivel correcto de proteasas fungal se puede mejorar las propiedades, manejo y fabricación de la masa junto con la elasticidad y textura de la masa, una cantidad pequeña de proteasa fungal puede reducir el tiempo de amasado significativamente y producir finalmente un pan con gran volumen, mejorando el grano y la textura de éste (67).

La proteasa fungal se utiliza normalmente en la producción de pan, debido a la baja estabilidad térmica. Amenudo se necesita que las proteasas fungales sean estandarizadas por raciones de actividades amilásicas; por lo que en el mercado se encuentran productos que contienen actividad amilásica junto con una actividad de las proteinasas.

## 2) Proteasas bacterianas.

Estas enzimas son obtenidas usualmente del *Bacillus Subtilis* y estandarizadas por niveles de actividad maltodextrinas.

Estas enzimas son fuertemente endopeptidasas específicas las cuales son activas sobre enlaces peptídicos internos del gluten y como resultado reducen la elasticidad y mejoran la extensibilidad. Las proteasas bacterianas son ideales para usarlas en harinas con gluten fuerte como para masa de galletas, pizzas y bizcochos (67).

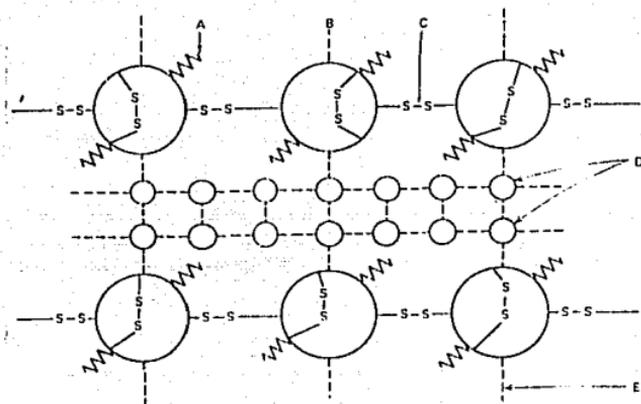
### 3.3.5.2 Sustrato

El sustrato de las proteasas son las proteínas existentes en la harina.

Las proteínas constituyen el 9-13 % del peso seco de la harina de trigo. El 85% de las mismas poseen la característica de combinarse con agua, dando lugar al denominado *gluten*, que confiere a la masa la capacidad de retener el gas.

El gluten está constituido por dos grupos principales de proteínas: gluteninas, de alto peso molecular, que son glutelinas, o sea, proteínas insolubles en soluciones salinas y neutras, y solubles o dispersables en soluciones diluidas de ácidos o bases, y gliadinas de bajo peso molecular, que son prolaminas, o sea, proteínas solubles en etanol. Las gluteninas cuando se hidratan, forman un masa muy tenaz y elástica, mientras que las gliadinas dan lugar a una masa más fluida, viscosa y poco elástica. El gluten en conjunto, muestra propiedades de cohesión, elasticidad y viscosidad intermedias. Un balance adecuado de elementos elásticos y viscosos es esencial en la masa, si se desea elaborar un pan de buena calidad. Las proteínas de la gliadina se cree que son cadenas únicas de polipéptidos que se mantienen en una forma elipsoidal compacta por los enlaces de disulfuro(s-s) intramoleculares. La gluteninas son moléculas de más diversos tipos. La glutenina insoluble está formada por subunidades de polipéptidos, cada uno de ellos mantenidos de manera compacta por enlaces de disulfuro intramoleculares. Estas subunidades están ligadas, a su vez, en una forma más o menos lineal por enlaces de disulfuro interpolipéptidos. Las subunidades de glutenina solubles se cree que están unidas una a la otra y a los polipéptidos de la glutenina II por enlaces secundarios como los de hidrógeno, hidrofóbicos o enlaces de Van der Waals (4,9,37,42,43,66).

A continuación se da un esquema sobre el modelo de la glutenina(42,43).



A) subunidad de la glutenina II (insoluble); B) puente disulfuro intramoleculares; C) puentes disulfuro intermoleculares; D) subunidades de glutenina I (soluble); E) enlaces secundarios (es decir, puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas).

Las restantes proteínas de la harina el 15% de las totales son, principalmente, albúminas y globulinas, solubles en agua o en soluciones salinas neutras, y no poseen las características típicas del gluten. Gran parte de las mismas son proteínas enzimática (42,43).

La solubilidad diferente de los distintos tipos de proteínas se explica en parte, por el contenido distinto de aminoácidos de las mismas.

En la siguiente tabla se dan los grupos funcionales de la harina de trigo (43).

GRUPOS	AMINOACIDOS	ALBUMINAS Y GLOBULINAS	GLIADI-NAS	GLUTEI-NAS
Acidos	Acidos aspártico y glutámico	91	27	35
Básicos	Arginina, histidina lisina, triptófano	100	39	52
Amido	Asparraguina, glutamina	90	309	266
Sulfhidrilo disulfuro	Cisteína, cistina	45	12	12
Total iónicos	Acidos + básicos	191	66	87
Total polares	Hidroxi + amidos	190	381	365
Total apolares		372	290	301

Se observa que la gliadinas y gluteninas contienen una proporción menor de restos ácidos y básicos que las albúminas y globulinas, lo que explica su baja solubilidad en agua. El contenido elevado en glutamina de gliadinas y gluteninas permite la formación de gran números de puentes de hidrógeno, entre grupos amino terminales y átomos de oxígeno de grupos carbonilo y similares. Las proteínas del gluten también tienen una proporción alta de restos no polares - grupos alifáticos y aromáticos -, los cuales, en medio acuoso, tienden asociarse (interacciones hidrófobas).

Tanto la gliadina como la glutenina contienen abundantes enlaces disulfuro, pero mientras que en la gliadina son principalmente de tipo intramolecular, originando plegamiento de cadenas, en la glutenina son, en su mayoría, de tipo intermolecular, originando agregados de peso molecular alto. Las propiedades viscoelásticas de la glutenina son, en gran parte, función de la presencia, en proporción adecuada de enlaces disulfuro intra e intermoleculares y están directamente relacionadas con la calidad panadera de la harina (9,43).

El gluten es un complejo formado aproximadamente como sigue (37):

Proteína	75.00%
Grasa	6.00%
Carbohidratos	15.00%
ceniza	0.08%

El gluten tiene una muy importante propiedad necesaria para la fabricación del pan, la de retener el gas formado durante la fermentación. Durante el amasado las proteínas interactúan con los granulos de almidón y forman una red, así que, el bióxido de carbono puede ser retenido. La red debe ser suficientemente fuerte y al mismo tiempo suficientemente elástica para continuar reteniendo el CO<sub>2</sub> durante el proceso de panificación.

La red tridimensional de almidón y proteínas debe ser capaz de formar una película delgada al rededor de las burbujas de CO<sub>2</sub>, mientras que el CO<sub>2</sub> es formado, y como resultado de la elevación de temperatura se da la expansión (37).

En estudios recientes, se ha mostrado que los lípidos polares libres de la harina de trigo (principalmente glicolípidos), se unen con el gluten durante la formación del pan.

La harina de trigo contiene cerca del 0.8% de lípidos libres. Del 0.8% de éstos el 0.6 % son no polares (principalmente triglicéridos) y el 0.2% son polares (glicolípidos y fosfolípidos). La harina contiene 0.6% de lípidos ligados.

Cuando la harina es humedecida y amasada, el 0.2% de lípidos polares libres y cerca de la mitad de los lípidos ligados están dispuestos para formar complejos lípido-proteínas con la glutenina del gluten. Se ha mostrado que los lípidos polares pueden ser ligados con la gliadina por medio de enlaces hidrofílicos y la glutenina por enlaces hidrofóbicos esto hace que se forme una película de proteína capaz de retener el gas. El complejo gliadina-glicolípido-glutenina tiene un especial significado en cuanto a la fuerte sensibilidad a calor de enlaces hidrógeno e incrementa la estabilidad de enlaces hidrofóbicos a elevadas temperaturas (30,31,36).

### 3.3.5.3 Mecanismo de acción.

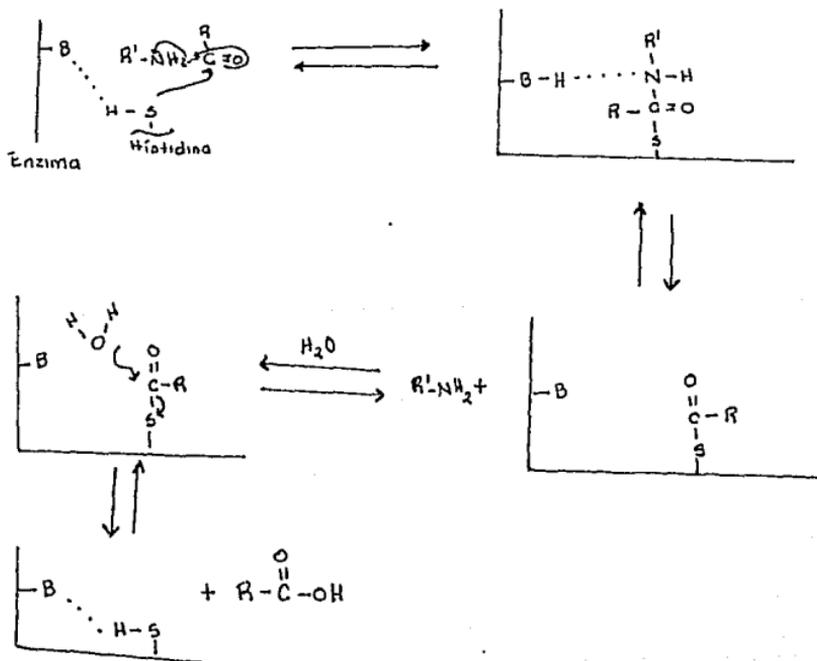
El efecto de las enzimas proteolíticas en la masa se parece al de los agentes reductores (cisteína, glutation o sulfitos) excepto que el efecto de estas enzimas es irreversible mientras que el de los agentes reductores se puede intervenir mediante el uso de oxidantes.

Las enzimas proteolíticas por otro lado producen un ensuavecimiento en el pan que aumenta según el tiempo de fermentación y que no se puede ser invertido mediante el uso de agentes reductores.

Los agentes oxidantes y reductores producen su efecto en la masa mediante cambios producidos en los grupos SH y SS. Las enzimas proteolíticas en cambio ejercen su acción en los polipéptidos reduciéndolos a menor tamaño mediante el ataque de los enlaces péptidos que constan de un grupo carboxílico y un grupo amino (2).

La formación de enlaces cruzados en las gluteninas modifica la calidad panadera de las harinas. Los puentes disulfuro desempeñan, en este sentido, un papel fundamental; de la proporción de este tipo de enlaces, principalmente intermoleculares, depende la capacidad de alargamiento - extensibilidad - de la masa, así como la tendencia de la misma a volver a su estado original - elasticidad - (43).

Las proteasas adicionadas a la harina pertenecen al grupo del tipo sulfhidrilo como los son: papaina, ficina, bromelaina, proteasas microbianas. Su principal grupo nucleofílico es el sulfhidrilo. El mecanismo de acción de estas enzimas es:



### 3.3.6 LIPOXIGENASA

#### 3.3.6.1 Generalidades.

Lipoxigenasa se refiere a un grupo de enzimas, la cual actúa como catalizador en la oxigenación de los lípidos específicamente ácidos grasos llamados cis,cis-1-4 pentadieno, por medio de oxígeno molecular.

Las enzimas catalizadoras de esta reacción están ampliamente distribuidas en las plantas, leguminosas, granos de soya particularmente fuentes vivas. No se han reportado enzimas de este tipo de origen microbiano. Una influencia sobre las propiedades de la masa, es que la lipoxigenasa incrementa la tolerancia de mezclado (22).

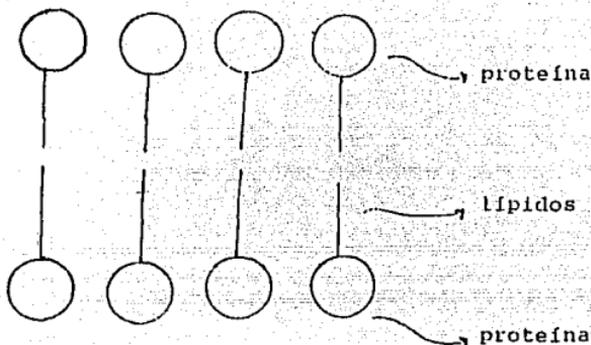
#### 3.3.6.2 Sustrato.

Los lípidos representan, normalmente, el 1-4% del peso del grano. Se encuentran concentrados en el tegmen o testa y en los tejidos del germen. Los lípidos de los cereales son principalmente, triglicéridos y, en segundo lugar, fosfolípidos. También se encuentran mono y diglicéridos y ácidos grasos libres.

Los lípidos de la harina desempeñan un papel importante en el compartamiento de la masa en la panificación, pero los mecanismos que intervienen no se conocen bien debido a la diversidad y complejidad de las interacciones entre los diversos constituyentes de la harina. Los lípidos de la harina pueden agruparse en a), lípidos enlazados dentro del gránulo del almidón, y b) lípidos no enlazados o libres. Los lípidos libres están constituidos, fundamentalmente, por triglicéridos, abundando también los glicolípidos y los fosfolípidos.

Los lípidos enlazados son casi exclusivamente lípidos monoacilados, constituidos en un 86-94% por losofosfolípidos. Estos lípidos se encuentran enlazados en el interior del gránulo de almidón con las cadenas helicoidales de amilosa, a las que se incorporan durante su biosíntesis.

En la panificación, los lípidos que cumplen el papel más importante son los libres y, de ellos los polares. Para la mejor calidad panadera de la masa y volumen del pan, es necesaria una proporción adecuada de lípidos polares. Estos actúan como agentes humectantes, facilitando la hidratación de la harina y la ordenación y deslizamiento de las moléculas de proteína durante el amasado. Los lípidos polares y las moléculas de proteínas forman asociaciones, a modo de una doble capa molecular; los grupos polares de los lípidos se asocian con restos polares de los aminoácidos de la proteína y los grupos apolares se dirigen hacia el interior de la doble capa(40,43).

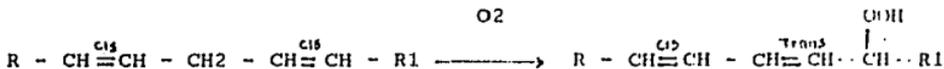


Asociación lípido-proteína en el gluten de la harina de trigo.

Por otra parte, durante el proceso de fabricación del pan, los lípidos de la harina sufren oxidaciones, catalizadas por las lipoxigenasas propias de la harina. Los compuestos finales resultantes de la oxidación (compuesto carbinílicos principalmente) influyen sobre las propiedades de la masa, por formar enlaces cruzados y contribuyen al aroma característico del pan (43).

### 3.3.6.3 Mecanismo de acción

El mecanismo de acción de esta enzima aún no es muy comprendido, pero el resultado de su acción es el siguiente. Usando como sustrato el ácido linoleico (22).



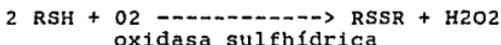
### 3.3.7 OXIDASA SULFHIDRICA

La oxidasa sulfhídrica es una enzima que se encuentra en la leche de vaca y en diversos microorganismos. La enzima cataliza la oxidación de grupos sulfhídricos ( SH ) y se ha encontrado que destruye el sabor a cocido en la leche.

La oxidasa sulfhídrica aún no está comercialmente disponible pero se puede encontrar disponible como una actividad conjunta a la alfa-amilasa fungal comercial.

Esta enzima es tan interesante como un agente oxidante para la harina de trigo. Una hipótesis de su acción, es que ayuda a que el gluten forme largos agregados a través de la formación de puentes disulfuros, lo que fortifica la masa e incrementa la tolerancia de mezclado y volumen (22).

La acción de la oxidasa sulfhídrica es la siguiente:



Esta enzima se clasifica como una oxidoreductasa. Donde el oxígeno puede ser donador o aceptor de electrones (65).

## IV METODOLOGIA

### 4.1 SINTESIS DE ACTIVIDADES

- 4.1.1 Clasificar las enzimas, que por su mecanismo de acción en la harina pueden ser utilizadas para mejorar las características reológicas del pan, basandose en la información teórica.
- 4.1.2 Realizar alveogramas de cada una de las enzimas clasificadas anteriormente, corriendo al mismo tiempo un blanco ( éste será harina sin aditivos), también se correrá un alveograma del producto que se desea sustituir para ver la diferencia que existe entre la enzima y las mezclas de enzimas que contiene éste.  
  
Los alveogramas de las enzimas se realizarán adicionandolas a la harina al 0.08 %. Se adicionan en este porcentaje debido a que éste nos permite ver los efectos que tiene la enzima sobre la harina.
- 4.1.3 Hacer mezclas con las enzimas que por los resultados obtenidos en los alveogramas puedan dar resultados semejantes al producto a sustituir. Elaborar alveogramas de cada una de -- de las mezclas corriendo al mismo tiempo un alveograma del producto a sustituir.
- 4.1.4 Hacer pruebas de panificación con las mezclas de enzimas que por los resultados en alveogramas tengan efecto semejante al producto a sustituir.
- 4.1.5 Analizar las mezclas finales y evaluar la mejor alternativa de sustitución en función a los resultados en panificación y precio de la mezcla enzimática.

### 4.2 MATERIAL

- 4.2.1 Harina
- 4.2.2 Sal
- 4.2.3 Levadura
- 4.2.4 Azúcar
- 4.2.5 Manteca
- 4.2.6 Moldes para pan
- 4.2.7 Charolas para pan.
- 4.2.8 Espátulas
- 4.2.9 Probeta de 100 ml
- 4.2.10 Matraz aforado de 500 ml
- 4.2.11 Enzimas

Las enzimas que serán analizadas se dan en el siguiente cuadro, junto con su actividad y temperatura de inactivación.

Estas enzimas son productos comercializados actualmente por lo cual no se mencionará su nombre comercial, pero sí sus actividades como medida de referencia. Se obtuvieron de diferentes laboratorios como son: ENMEX S.A de C.V., GRINSTED S.A de C.V., BIOCON S.A de C.V., ROHM S.A. de C.V., GIST-BROCADES S.A de C.V., etc.

Enzimas analizadas en el experimento

NUMERO	ENZIMA	ACTIVIDAD	TEMPERATURA DE INACTIVACION
1 *	Producto a sustituir	2,000 SKB/g	55°C
2	Alfa-amilasa funga- gal, contiene una actividad proteolít- tica muy baja.	5,000 SKB/g	60°C
3	Mezcla de enzimas fungales, contiene un balance de actividad amilolítica y proteolít- tica.	350 SKB/g + 4,500 HU/g	55-60°C
4	Enzima proteolítica mi- crobiana.	200 Nu/g	55-60°C
5	Amiloglucosidasa fun- gal.	900 Du/g	60°C
6	Alfa-amilasa bacterial	340,000 MWU/g	90°C
7	Enzima amiloglucosida- sa	700 Du/g	65°C
8	Alfa-amilasa bacterial	5,000,000 U/g	85-90°C
9	Mezcla de celulasa, he- micelulasa y glucocanasa.	132 GCU/g	60°C
10	Alfa-amilsa fungal	110,000 SKB/g	77°C
11	Proteasa bacterial	9,000 NPU/g	65°C

NUMERO	ENZIMA	ACTIVIDAD	TEMPERATURA DE INACTIVACION
12	Hemicelulosa fungal contiene pentosanasas	1,500 SKB/g	60-65°C
13	Alfa-amilasa	3,500 SKB/g	50 °C
14	Proteinasa(papaína)	7,000 NPU/g	65 °C
15	Amiloglucosidasa	100,000 SKB/g	60°C
16	Alfa-amilasa fungal	2300 SKB/g	55-60°C
17	Celulasa	100 GCU/ml	65°C
19	Alfa-amilasa	2,000 SKB/g	90°C

\* El producto a sustituir es una mezcla de enzimas, por ser un producto comercial no se sabe realmente lo que contiene, su actividad es de 2000 SKB/g, es decir está estandarizada como una alfa amilasa, sin embargo, contiene actividades secundarias.

SKB = Al número de gramos de almidón solubles que bajo, la influencia de un exceso de B- amilasa, son dextrinixadas por un gramo de malta en una hora a 30°C y a un pH de 4.6 (71).

HU = (unidad de hemoglobina) una unidad de HU es la cantidad de enzima que es capaz de producir en un minuto, bajo las condiciones descritas (según método), un hidrolizado cuya absorbancia a 275 nm, es la misma de aquella de una solución que contiene 1.10 gr/ml de tirosina en HCl 0.006 N; el valor de esta absorbancia es 0.0084 (71).

#### 4.3 EQUIPO

- 2.1 Alveógrafo
- 2.2 Cámara de Fermentación.
- 2.3 Horno
- 2.4 Amasadora
- 2.5 Balanza de precisión con sensibilidad de 0.1 mg
- 2.6 Determinador de humedad
- 2.7 Medidor de volumen de pan

#### 4.4 METODOS

##### 4.4.1 Alveógrafo.

Los alveogramas se realizarán por medio de un alveógrafo. A continuación se describe el método del alveógrafo.

##### 4.4.1.1 Fundamento.

El alveógrafo es un aparato que sirve para medir las propiedades plásticas de la masa. Con esta medida se puede evaluar calidad para predecir si una harina es buena para pan, galletas, pasteles o pastas.

El alveógrafo consta de tres partes:

- 1) Una amasadora donde la harina se mezcla con la cantidad de agua salada necesaria para tener en todos los casos la misma absorción, dándole siempre el mismo mezclado. Una vez obtenida la masa, se extrae de la amasadora y se corta en discos, los cuales se dejan reposar dentro de una cámara a 25°C, durante 20 min.
- 2) Al cabo de 20 minutos cada disco se aplanan sobre una platina, cuya base tiene un orificio central obturado por un pivote movable, que es la parte por donde entra aire inyectado a cierta presión, el cual va actuar sobre la masa, para extenderla y formar un globo.
- 3) Manómetro hidráulico graficador, ante el se registra el comportamiento que presenta la masa al aire inyectado, el aire que no se usa para deformar la masa, actúa sobre el agua contenida en un recipiente que lleva un flotador unido a una pluma, la que descansa sobre el tambor giratorio, el cual sostiene el papel sobre el que se inscribe la gráfica característica de cada harina.

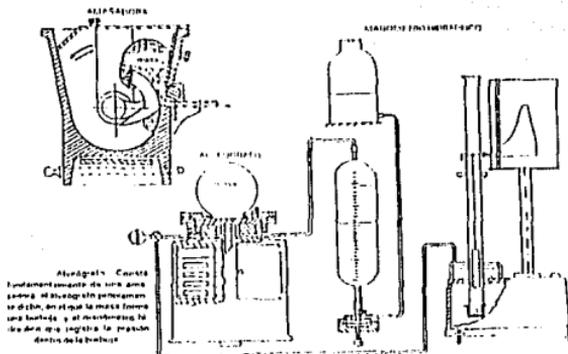


Fig. 3 Esquema del alveógrafo.

La altura PQ de la gráfica es medida en mm, a dicho valor se le designa con la letra P y representa la tenacidad de la harina, representa la presión de aire que se necesita para vencer la resistencia de la masa a ser deformada. Una vez que se vence la tenacidad de la masa, ésta empieza a ser extendida, teniendo cada vez menos espesor, para lo cual se emplea cada vez mayor cantidad de aire que se inyecta y sólo el que va sobrando levanta la pluma registradora cada vez menos y por ello el trazo va descendiendo, hasta el momento en que la masa se rompe, se escapa todo el aire por la ruptura, con lo cual ya no llega nada al manómetro para levantar la pluma y ésta desciende a la línea base. De ahí que la cantidad de aire que se emplea en el ensayo, sea la medida de extensibilidad de la harina, pues entre mayor sea ésta, mayor cantidad de aire se necesitará. El volumen de aire se mide en cifras denominadas G (fig.4).

Se considera que la harina con  $P/G = 5$ , es apropiada para pan, cuando este valor crece numéricamente, la tenacidad de la harina se va haciendo cada vez mayor y cuando decrece, la extensibilidad de la harina va acrecentándose.

La corriente de aire que extiende la masa, efectúa un trabajo mecánico, el cual es mayor cuando la harina va siendo más tenaz o cuando va siendo más extensible. El valor W, nos da la medida de este trabajo que es la fuerza de la harina, cuanto mayor es esta fuerza, mayor será el trabajo de deformación ( 46,61,69).

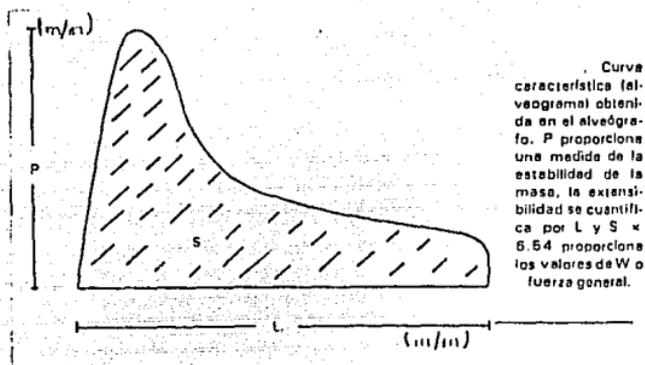


Fig.4. Curva característica de una alveograma.

#### 4.4.1.2 Obtención de alveograma.

Para la obtención de un alveograma se debe seguir el siguiente procedimiento :

- Pesar 250 gr de harina. En este paso se debe agregar la cantidad de enzima a analizar.
- Agregar solución de cloruro de sodio al 2.5% según la humedad de la harina.
- Amasar por 6 minutos. Si se trata de harinas fuertes, el tiempo de amasado aumenta.
- Extraer trozos de la masa y laminar con el rodillo pasándolo 12 veces.
- Meter en la cámara de reposo del alveógrafo las pastas por un tiempo de 20 minutos, de tal manera que desde el inicio del amasado hasta la compresión de la masa hayan pasado exactamente 26 minutos.

- f) Colocar la primera pasta en la platina y prensarla.
- g) Introducir aire con la perilla hasta formar una burbuja.
- h) Preparar la plumilla y papel para graficar, en el cilindro para tal efecto.
- i) Poner en marcha el alveógrafo hasta que se reviente la burbuja.
- j) La gráfica indicará las características reológicas de la harina de prueba.
- k) Repetir las operaciones desde el punto f, con las cuatro pastas restantes.

Después de esto por tablas ya establecidas, se saca el área bajo la curva de la gráfica y se determinan los valores de G, P, L, P/L y W.

Hay una alta correlación W (fuerza) y L (longitud) con el contenido de proteína y el volumen de pan. La longitud del alveograma está relacionada con la extensibilidad de la masa; la altura de la curva está relacionada con la dureza y tenacidad de la masa; mientras que el valor de W es considerada como la mejor medida de la resistencia a la extensión (70).

Acontinuación se presenta un ejemplo de un alveograma y como se determinan las variables (fig.5).

- W = Fuerza (joules)
- L = Extensibilidad (m/m)
- P = Tenacidad (m/m)
- G = Expansión
- P/G = Elasticidad

"ALVEOGRAFO"  
ANALIZADOR DE HARINAS PARA MASAS



Numero No \_\_\_\_\_ Fecha 2/10/64

Objeto \_\_\_\_\_

Humedad % agua sci \_\_\_\_\_

Laboratorio Temperatura °C Humedad relativa % \_\_\_\_\_

W = 8,54 x  $\left(\frac{S}{100}\right) \times 10^4$  joules

El coeficiente 8,54 es válido para

1a. Una duración de rotación del tambor de 55 segundos de tona a tona

2a. Una duración de paso del agua en el cilindro de vidrio de 23 segundos de 0 a 0 a 25

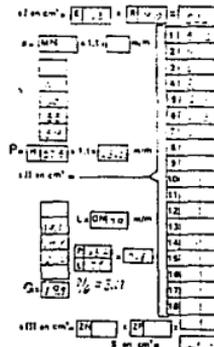
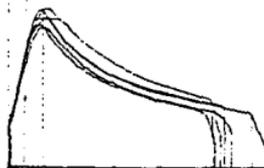


Fig. 5 Esquema de un alveograma.

#### 4.4.2 Elaboración de Pan

##### 4.4.2.1 Formulación del pan

Harina .....	250 gr
Sal.....	5 gr
Agua.....	145 ml aprox.
Azúcar.....	7 gr
Levadura.....	2.5 gr

##### 4.4.2.2 Método de elaboración

- 1) Adicionar las enzimas en la harina.
- 2) Mezclar todos los ingredientes.
- 3) Amasar durante 6 minutos.
- 4) Dejar reposar la masa 20 minutos.
- 5) Moldear la masa y hacer forma de bolillo o pasarla en - moldes.
- 6) Dejar fermentar en la cámara de fermentación durante 1 hr
- 7) Hornear la masa a 300°C durante 45 minutos.

#### 4.4.3 Evaluación del Pan.

La calificación del pan es un análisis comparativo que depende de un juicio personal. Las hogazas de pan se comparan con cierta hogaza tomada como estándar ( en este caso será el pan elaborado con el producto a sustituir).

##### 4.4.3.1 Propiedades Físicas a Evaluar

###### a) Volumen.

El largo, ancho y altura de la hogaza son los factores de control que deban establecerse. El volumen se determinará con el medidor de volumen para pan.

El factor más importante que controla al volumen de la hogaza es la fuerza de la harina, que comprende tanto la calidad como la cantidad del gluten, otro factor es la fermentación apropiada y el fortalecimiento o elasticidad de la red proteica que le puede dar la enzima aplicada.

Una harina débil producirá una hogaza de volumen pequeño. Sin embargo, si la harina fuerte no se maneja apropiadamente, se reducirá substancialmente el volumen por falta de elasticidad.

La fermentación también afecta el volumen, ya que si el gluten no está desarrollado a su máximo en una masa joven, no es dócil y ofrece tanta resistencia a la expansión de gases, que la hogaza no crecerá suficientemente para producir un volumen adecuado. La temperatura y la duración del periodo de prueba final están muy relacionados con el volumen final (46,52).

b) Color y caracter de la corteza.

El color se afecta por casi todos los materiales que forman la masa al igual que por las etapas del proceso, por lo que debe ejercerse particular precaución para que puedan coordinarse todos estos elementos.

La fermentación apropiada también afecta el carácter de la corteza. Una masa vieja produce una corteza quebradiza y un color pálido característico, mientras que una masa muy joven produce una corteza rígida de color rojo. Un contenido insuficiente de humedad y la formación de una corteza sobre la hogaza de masa en la cámara de vapor producirá una corteza gruesa y quebradiza (46,52).

c) La simetría de la forma.

Es importante desde el punto de vista de las ventas y se determina en gran parte por el método de depositado en molde. Debe tenerse cuidado al depositarse la masa en el molde y durante el periodo de prueba subsecuente, para que las hogazas retengan su forma característica (54,61).

d) La uniformidad.

La uniformidad de horneado y la del color en la superficie, paredes y piso de la hogaza aumenta su atractivo. Esto se determina principalmente por la distribución del calor a través de la cámara del horno y la uniformidad de la temperatura durante el horneado (55).

e) La textura.

La textura de la miga se determina al presionar ligeramente sobre un porción de miga de una hogaza rebanada, con la yema de los dedos. Una textura deseable la tendrá una hogaza con una sensación al tacto suave y sedosa. Existen varias causas que provocan una mala textura: masas sobrefermentadas, periodos de pruebas insuficientes, temperaturas elevadas de la masa, bajas temperaturas de horneado, etc (61,52).

f) El color de la miga.

Depende de varios factores, siendo uno de los más importantes clase y variedad del trigo y el porcentaje de la extracción de la harina.

La masa debe de estar fermentada adecuadamente, ya que una masa joven tiene un tono amarillo característico que pasa por varias tonalidades de blanco, hasta que toma un color grisáceo. También cabe señalar que un grano cerrado uniforme presenta un color más blanco que un grano abierto y áspero y el color de la hogaza rebanada debe ser uniforme sin vetas grises o de mal color (55).

g) El grano.

El grano de la miga puede considerarse como la propiedad de la hogaza y se debe al tamaño y distribución de las burbujas de gas producidas durante la fermentación. Los espacios de burbujas de gas grandes e irregulares provocan un grano abierto, mientras que las burbujas pequeñas, uniformemente separadas provocan un grano fino. La fuerza del gluten, fermentación, mezclado, temperaturas del horno y otros factores, se combinan para dar el grano característico (46,52).

h) El sabor

Se obtiene al usar una fórmula bien balanceada mediante el uso de ingredientes de alta calidad y mediante la fermentación apropiada a lo largo de todo el proceso. No existe un elemento individual que por sí mismo produzca esta importante cualidad. Se considera que existen por lo menos 60 compuestos volátiles responsables del sabor del pan (54,55).

#### 4.4.3.2 Puntuación en la evaluación del pan.

En el siguiente cuadro se da el valor en puntos de cada una de las propiedades físicas que se evaluará en el pan, según la metodología propuesta por Matz (52), donde la suma de los puntos a calificar es cien, por lo que, se calificará cada característica del pan por puntos y la suma de estos puntos nos proporcionará la calificación de cada hogaza de pan.

Nota: C.externas significa características externas y C.Internas significa características internas.

## Evaluación de las características del pan (52).

C. EXTERNAS	CALIFICACION MAXIMA	PENALIZADO POR
Volumen	0 - 10	Demasiado pequeño
Color de la corteza	0 - 8	Dispareja, demasiado pálida, demasiado -- oscura, oscura, ve teada.
Simetría de la forma	0 - 3	Mal acabado, protuberante, baja de un lado, baja en la -- parte media, parte superior no uniforme, tapa plana, acabado pequeño, costados arruinados.
Uniformidad	0 - 3	Lados pálidos, acabado pálido, base -- pálida, base oscura, base manchada.
Característica de corteza.	0 - 3	Gruesa, dura, correa, quebradiza.
Características de rompimiento.	0 - 3	Únicamente una porción, rompimiento rugoso.
C. INTERNAS		PENALIZADO POR
Grano	0 - 10	Abierto o grueso, no uniforme, agujeros.
Color de la miga.	0 - 10	Grisáceo, oscuro, veteada.
Aroma	0 - 10	Fuerte, ligero, extraño, húmedo.
Sabor	0 - 15	Característico, salado, ácido, desagradable, extraño.

C. INTERNAS	CALIFICACION MAXIMA	PENALIZADO POR
Masticabilidad	0 - 10	Adecuada, seca ,du- ra, gomosa.
Textura	0 - 15	Rugosa, apelmazada, grumosa, desmenuza- ble, rígida, floja, demasiado compacta.

**Nota:**

Las pruebas de panificación se harán por duplicado, además de que también serán hechas por un panadero. Las condiciones serán las mismas para todas las pruebas, es decir, mismo tiempo de mezclado, amasado, fermentación y horneado. El pan se hará con la mezcla de enzimas directamente en la harina para ver el efecto de éstas. Después, con las enzimas ya integradas al mejorante completo, nos confirmará el efecto de la enzimas en la harina y si no, se presenta algún un efecto inhibidor por parte de algún otro ingrediente del mejorante. El pan elaborado será evaluado por el panel de FRAMAEX S.A de C.V, el cual está integrado por 6 personas ya entrenadas y preparadas que se encargan de evaluar cada prueba de pan ahí elaborada. La evaluación es de acuerdo al cuadro anteriormente mostrado.

## V RESULTADOS

### 5.1 Resultados de Enzimas

5.1.1 Los resultados obtenidos de los alveogramas de las enzimas se dan en la tabla número 1.

Acontinuación se da la explicación de esta tabla.

a) En esta tabla se dan los resultados obtenidos en los alveogramas de cada una de las enzimas analizadas. Se aclara que no se empezó a trabajar con todas las enzimas desde el inicio del experimento, si no, conforme se fueron adquiriendo y necesitando a éstas.

b) Debido a que los alveogramas de las enzimas se hicieron en diferentes días, se corrió un alveograma del producto a sustituir y del blanco para cada ensayo, por lo que, se darán varios valores de estos últimos.

c) Los alveogramas realizados se hicieron por duplicado y en ocasiones por triplicado, por lo que se dará como resultado el promedio de los alveogramas realizados de cada una de las enzimas.

d) A continuación se dan las enzimas que están relacionadas con cada uno de los alveogramas del producto a sustituir y con el blanco ya que fueron corridos el mismo día.

<u>P. A SUSTITUIR</u>	<u>BLANCO</u>	<u>ENZIMAS</u>
1 a	a	12,13,14
1 b	b	2,3,5,6,16,17
1 c	c	4,7,8,9,10,11
1 d	d	15,19

Las letras a,b,c y d indican los diferentes días que fueron corridas las pruebas. Esto marcado como referencia.

P.A sustituir significa producto a sustituir.

e) El número de cada enzima se da de acuerdo a la numeración del cuadro de enzimas existente en el capítulo de metodología subíndice 4.2.

f) Significado de claves de la tabla 1.

P = Tenacidad (m/m)

L = Extensibilidad (m/m)

G = Expansión

W = Fuerza ( x 10 joules)

P/G = Elasticidad

concen = concentración de la enzima (gr).

5.1.2 Después de la tabla 1, se muestran las gráficas de los resultados anteriores.

Acontinuación se dan algunas aclaraciones de las gráficas:

a) Se gráficán los resultados de tenacidad y extensibilidad de cada enzima comparandolos con los obtenidos al blanco y con los del producto a sustituir.

b) Se grafican estas dos variables ya que son las más significativas en cuanto a los resultados en panificación.

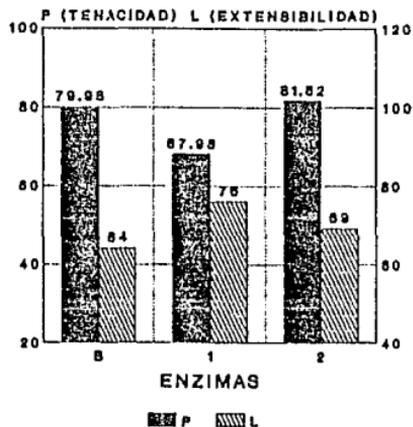
c) Cada gráfica tiene un número de enzima que correspnde al número dado en la tabla anterior.

Tabla 1. Resultados de enzimas

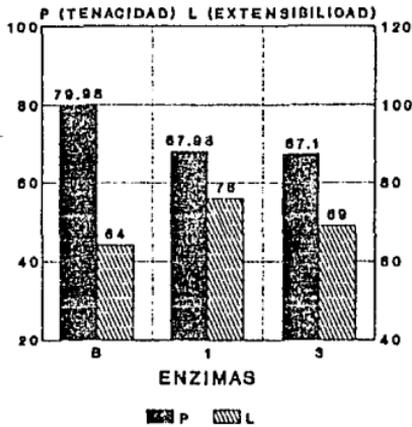
Número	Enzima	P	G	P/G	L	W	Concen
I	1a	66.22	19.22	3.43	75	204.9	0.08%
II	1b	67.98	19.46	3.46	76	208.8	0.08%
III	blanco a	78.23	17.40	4.49	63	254.2	--
IV	blanco b	79.98	17.20	4.65	64	257.03	--
V	13	62.92	16.54	3.80	55	148.32	0.08%
VI	12	77.44	16.42	4.71	55	199.94	0.08%
VII	14	54.6	17.8	3.43	75	204.9	0.08%
VIII	17	50.16	21.08	2.37	88	181.35	0.08%
IX	3	67.1	18.5	3.62	69	207.18	0.08%
X	6	83.05	16.5	5.03	54	207.6	0.08%
XI	2	81.62	18.44	4.42	69	224.32	0.08%
XII	16	74.8	16.7	4.47	57	176.12	0.08%

Número	Enzima	P	G	P/G	L	W	Concen
XIII	5	78.1	17.4	4.48	62	219.7	0.08%
XIV	1 c	59.1	19	3.11	74	139.30	0.08%
XV	blanco c	81.7	16.1	5.07	52	182.4	--
XVI	4	35.6	20.4	1.74	84	119.35	0.08%
XVII	7	73.33	15.9	4.9	49	152.25	0.08%
XVIII	8	42.9	19.6	2.18	79	131.19	0.08%
XIX	10	32.6	20.1	1.62	82	102.8	0.08%
XX	9	67.4	18.1	3.72	62	174.6	0.08%
XXI	11	22.1	23.9	0.92	110	74.09	0.08%
XXII	1 d	77.73	16	4.85	52	141.19	0.08%
XXIII	blanco d	89.5	13.9	6.4	40	191.85	0.08%
XXIV	19	71.5	16	4.4	52	158.3	0.08%
XXV	15	65.78	21.96	2.99	83	214.46	0.08%

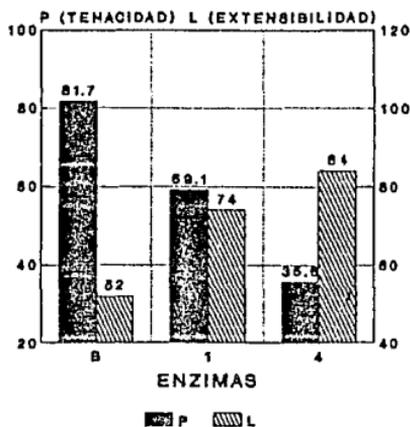
## EFFECTO DE ENZIMAS ENZIMA 2



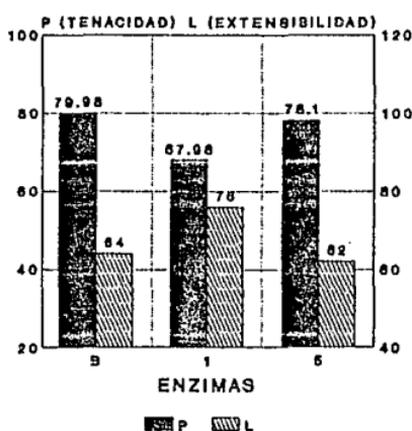
## EFFECTO DE ENZIMAS ENZIMA 3



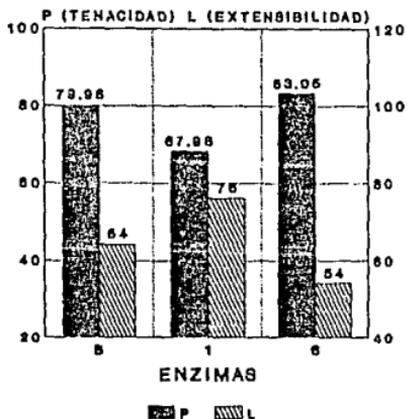
## EFFECTO DE ENZIMAS ENZIMA 4



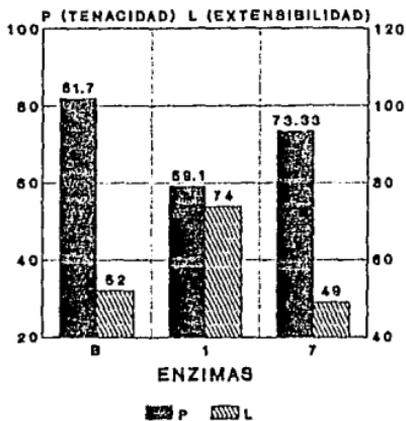
## EFFECTO DE ENZIMAS ENZIMA 5



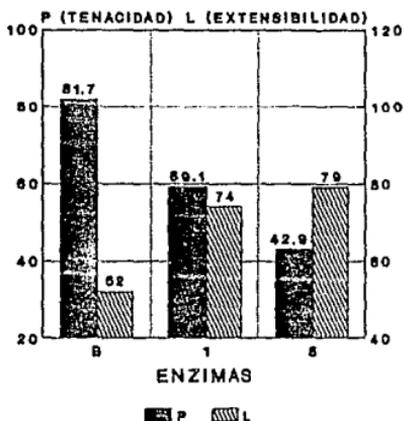
### EFFECTO DE ENZIMAS ENZIMA 6



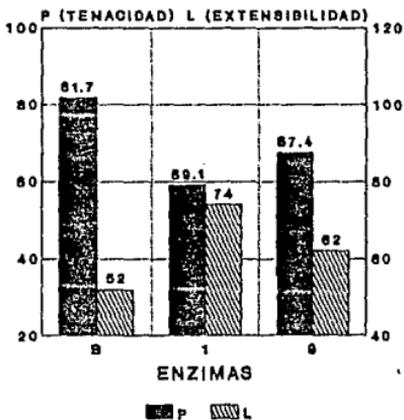
### EFFECTO DE ENZIMAS ENZIMA 7



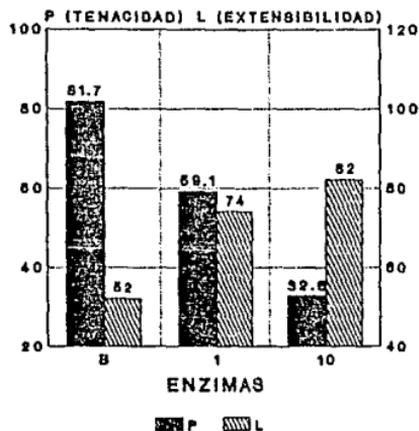
### EFFECTO DE ENZIMAS ENZIMA 8



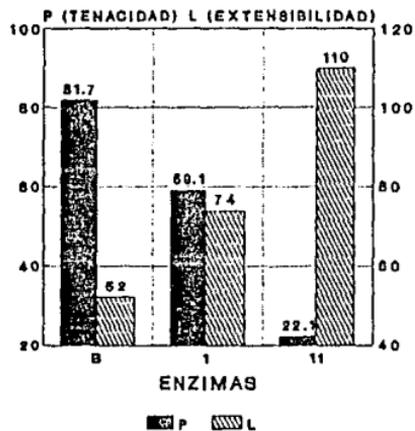
### EFFECTO DE ENZIMAS ENZIMA 9



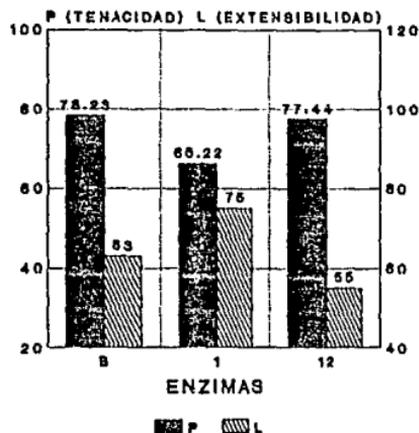
## EFFECTO DE ENZIMAS ENZIMA 10



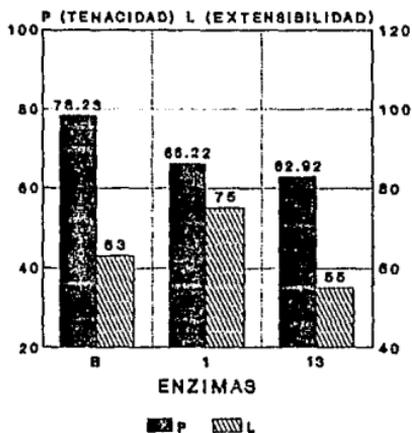
## EFFECTO DE ENZIMAS ENZIMA 11



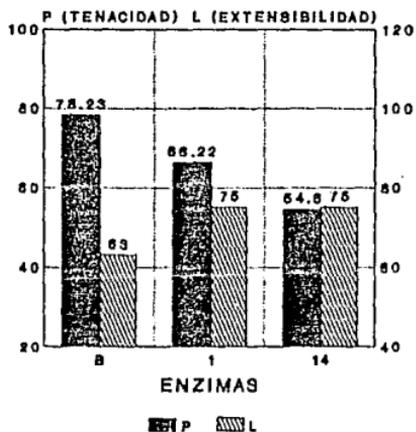
## EFFECTO DE ENZIMAS ENZIMA 12



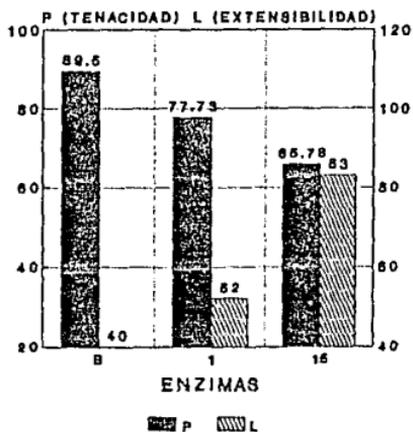
## EFFECTO DE ENZIMAS ENZIMA 13



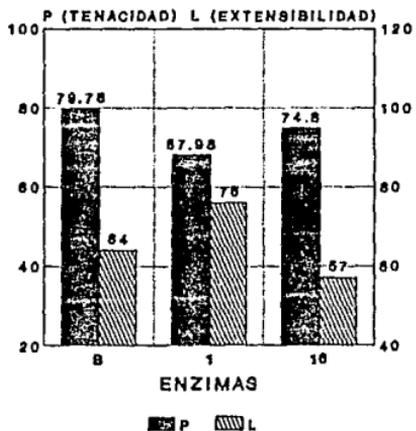
## EFFECTO DE ENZIMAS ENZIMA 14



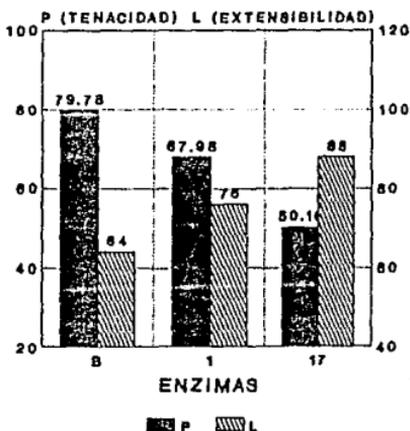
## EFFECTO DE ENZIMAS ENZIMA 15



## EFFECTO DE ENZIMAS ENZIMA 16

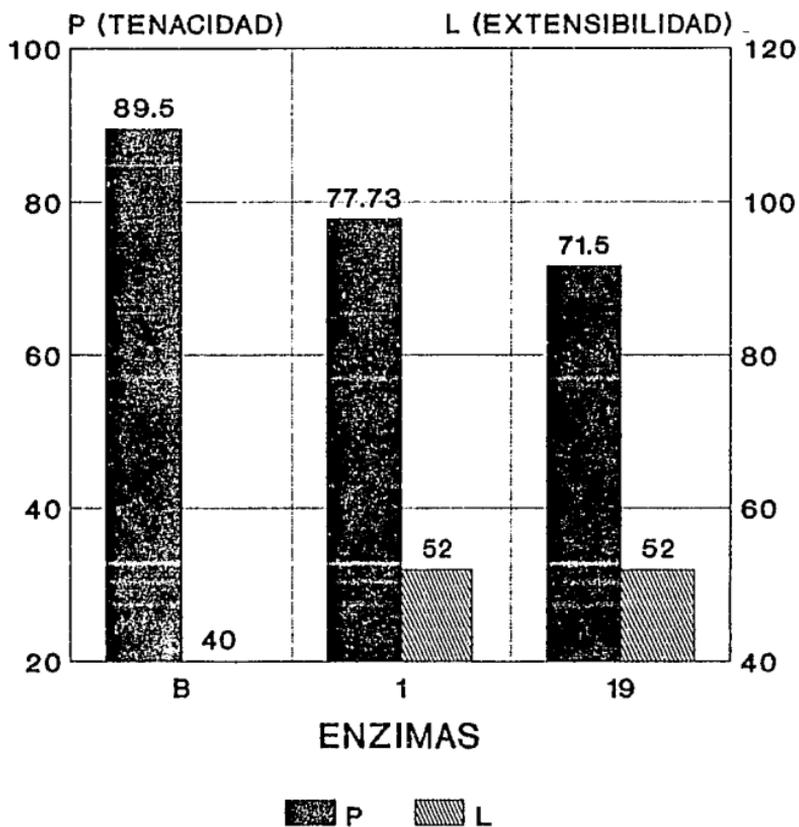


## EFFECTO DE ENZIMAS ENZIMA 17



# EFECTO DE ENZIMAS

## ENZIMA 19



eb.

## 5.2 Resultados de mezclas enzimáticas

5.2.1 En la tabla 2 se dan los resultados obtenidos en los alveogramas de las mezclas enzimáticas.

A continuación se da la explicación de la tabla 2:

a) Las mezclas enzimáticas se hicieron en base a los resultados obtenidos en los alveogramas de cada una de las enzimas, y comparando estos resultados con los obtenidos en los alveogramas del producto a sustituir.

b) Las primeras enzimas que se analizaron fueron: 1, 2, 3, 5, 6, 16 y 17. Por lo que, con estas enzimas se hicieron las primeras mezclas.

c) Debido a que se tenían datos comparativos ( P, G, P/G, L, W) entre cada enzima y el producto a sustituir, por medio de matrices se resolvieron las siguientes ecuaciones para sacar la concentración de estas enzimas, y por lo consiguiente, obtener resultados similares o iguales al producto a sustituir.

De acuerdo a los resultados dados en la tabla 1:

P-> 50.16 Ce + 67.16 G + 83.05 T + 81.62 GS + 74.8 H + 78.1 D = 67.98  
G-> 21.08 Ce + 18.5 G + 16.5 T + 18.44 GS + 16.7 H + 17.4 D = 19.49  
P/G 2.37 Ce + 3.62 G + 5.03 T + 4.42 GS + 4.4 H + 4.4 D = 3.46  
L-> 88.00 Ce + 69.00 G + 54.00 T + 69.00 GS + 57.0 H + 62.0 D = 76.00  
W-> 181.35 Ce + 207.18 G + 207.6 T + 224.32 GS + 176.1 H + 219.7 D = 208.0

Donde:

Ce = enzima 17  
G = enzima 3  
T = enzima 6  
GS = enzima 2  
H = enzima 16  
D = enzima 5

Las mezclas obtenidas de esta matriz fueron:

MEZCLA	CONCENTRACION DE ENZIMAS
A	(3.30 gr) de enzima 16 (1.83 gr) de enzima 5

MEZCLA	CONCENTRACION DE ENZIMA
B	(0.072 gr) de enzima 17 (0.928 gr) de enzima 2 (1.02 gr) de enzima 16
C	(0.436 gr) de enzima 17 (1.81 gr) de enzima 6 (1.3 gr) de enzima 2
D	(3.158 gr) de enzima 16 (1.59 gr) de enzima 5
E	(0.43 gr) de enzima 2 (2.154 gr) de enzima 16

d) Posteriormente se analizaron las enzimas 12, 13 y 14; y por los resultados obtenidos en sus respectivos alveogramas (tabla 1), se llegó a las siguientes ecuaciones.

$$G \rightarrow 16.5 R + 17.8 C + 16.7 H = 19.26$$

$$L \rightarrow 55 R + 75 C + 57 H = 75$$

$$W \rightarrow 148.32R + 204.9C + 207.1H = 204.9$$

Donde:

R = enzima 13

C = enzima 14

H = enzima 16

La mezcla resultante de estas ecuaciones fue:

MEZCLA	CONCENTRACION DE ENZIMAS
F	(0.097 gr) de enzima 13 (0.138 gr) de enzima 14 (0.003 gr) de enzima 4

e) Por los resultados obtenidos en alveogramas la enzima 12 cumple con las variables P y P/G en comparación a la enzima a sustituir, y no con G, L y W; y la mezcla A cumple con todas las variables excepto con W. Por lo que se decidió mezclar estas enzimas obteniendo lo siguiente:

MEZCLA	CONCENTRACION DE ENZIMAS
G	(0.08) de enzima 16 (0.04) de enzima 5 (0.1 ) de enzima 12

f) De acuerdo con los resultados obtenidos en el alveograma de la mezcla G (tabla 2) cumple con todas las variables comparables con la enzima a sustituir excepto con P/G por lo que se mezcló con la enzima 14 que si cumple con esta variable.

$$P \rightarrow 58.06 E + 54.6 C = 55.6$$

$$G \rightarrow 19.6 E + 17.8 C = 18.5$$

Donde:

E = mezcla G  
C = enzima 14

Se obtuvo la siguiente mezcla:

MEZCLA	CONCENTRACION DE ENZIMAS
H	(0.044 gr) de enzima 16 (0.02 gr) de enzima 5 (0.06 gr) de enzima 12 (0.085 gr) de enzima 14

g) Se elaboró pan de las mezclas anteriores ( los resultados se dan en la tabla 3).

En las pruebas de panificación, la mezcla G fue la que dió mejores resultados, aún, mejores que los resultados obtenidos en el pan elaborado con el producto a sustituir. Por lo que se decidió bajar la concentración de la mezcla enzimática "G", por cuestiones económicas. Por estudios realizados anteriormente se bajo 25% la concentración de la enzima 16, 50% de la enzima 5 y 20 % de la enzima 12. Resultando la siguiente mezcla.

MEZCLA	CONCENTRACION DE ENZIMAS
G-1	(0.06 gr) de enzima 16 (0.02 gr) de enzima 5 (0.08 gr) de enzima 12

h) Por problemas de distribución de las enzimas 12 y 16, y con base a la experiencia del presente estudio, se decidió cambiar estas enzimas por otras hemicelulasas y amiloglucosidasas de diferentes laboratorios, y así poder sustituirlas en la fórmula G.

Se analizaron las enzimas 4, 7, 8, 9, 10, 11, 15 y 19. Las proteasas ( 4, 11) se descartaron por hidrolizar mucho la harina y dejarla muy débil. La cantidad necesaria para hidrolizar adecuadamente la harina es pequeña, y esta actividad proteolítica necesaria puede presentarse en combinación con las amilasas usadas.

Por la facilidad de obtener las enzimas 15 y 17, se decidió que éstas sustituirían a las enzimas 12 y 16.

1) Primero se sustituyó la enzima 16 por la enzima 15. La cantidad de enzima a sustituir se basó en la actividad ejercida por la enzima 16 en la mezcla enzimática, sustituyendo así, está actividad con la enzima 15.

#### Actividades:

Enzima 16 = 2,300 SKB/g

Enzima 15 = 100,000 SKB/g

La actividad de la enzima 16 en la mezcla es de 184 SKB. Se hizo una dilución 0.1 gr de enzima 15 en 9.9 gr de fécula y sustituyendo la actividad de la enzima 16 se obtuvo la fórmula G-2. Por cuestiones económicas se obtuvo la mezcla G-3.

MEZCLA	CONCENTRACION DE ENZIMAS
G-2	(0.001 gr) de enzima 15 (0.04 gr) de enzima 5 (0.1 gr) de enzima 12
G-3	(0.001 gr) de enzima 15 (0.03 gr) de enzima 5 (0.09 gr) de enzima 12

J) Posteriormente se sustituyó la enzima 12 por la enzima 17 en la mezcla G, y debido a que la enzima 17 es líquida se encapsuló ( 5 gr de enzima en 10 gr de fécula). Se obtuvo la mezcla G-4 y se experimento a diferentes concentraciones obteniendose las mezclas G-5, G-6 G-7.

MEZCLA	CONCENTRACION DE ENZIMAS
G-4	(0.001 gr) de enzima 15 (0.03 gr) de enzima 3 (0.03 gr) de enzima 17
G-5	(0.001 gr) de enzima 15 (0.02 gr) de enzima 3 (0.02 gr) de enzima 17
G-6	(0.001 gr) de enzima 15 (0.03 gr) de enzima 3 (0.02 gr) de enzima 17
G-7	(0.001 gr) de enzima 15 (0.02 gr) de enzima 3 (0.06 gr) de enzima 17

**Nota:**

De todas la mezclas anteriores se corrieron alveogramas por duplicado comparandose con la enzima a sustituir al 0.08 % en harina.

k) Se elaboró pan con la mezclas directamente en la harina y las mezclas de dieron mejores resultados se probaron integradas en el mejorante ( resultados tabla 3). El mejorante completo es un conjunto de aditivos que pueden combinarse con enzimas para dar mejores resultados en el pan.

Las mezclas G-4 y G-7 fueron las que dieron mejores resultados, por lo que se hicieron pruebas de panificación con estas mezclas integradas al mejorante completo. Las formulaciones de estas mezclas en el mejorante se dan a continuación ( G-4.1 y G-7.1) y su efecto se compara contra 1.5 gr de la enzima a sustituir.

MEZCLA	CONCENTRACIONES DE ENZIMA
G-4.1	(0.006 gr) de enzima 15 (0.20 gr) de enzima 5 (0.202 gr) de enzima 17
G-7.1	(0.006 gr) de enzima 15 (0.20 gr) de enzima 5 (0.405 gr) de enzima 17

1) Por escasez de la enzima 17, se obtuvo del mismo laboratorio una enzima con las mismas características que la enzima 17, pero con diferente actividad.

Actividades:

Enzima 17 = 100 GCU

Enzima 17' = 132 GCU

Se sustituyó a la enzima 17 por la 17' en función de su actividad, y se obtuvieron las mezclas G-4.1.1, G-7.1.1 y una tercera la G-8 que es el promedio de la enzima 17' en las mezclas anteriores. Además se empezó a diluir 1 gr de de enzima "15" en 9 grs de fécula, tomando 1.242 grs de la dilución con el objeto de mejorar los resultados ya obtenidos. Las formulaciones que a continuación se dan son en base al mejorante completo y se comparan con 1.5 gr de la enzima a sustituir.

MEZCLA	CONCENTRACION DE ENZIMAS
G-4.1.1	(0.15 gr) de enzima 17' (0.20 gr) de enzima 5 (0.12 gr) de enzima 15
G-7.1.1	(0.306 gr) de enzima 17' (0.20 gr) de enzima 5 (0.12 gr) de enzima 15
G-8	(0.221 gr) de enzima 17' (0.20 gr) de enzima 5 (0.12 gr) de enzima 15

m) Por las pruebas en alveograma y en pan la mezcla G-8 es la que da mejores resultados. Pero para que estos resultados mejoraran se decidió adicionar enzimas que aumentarán la tenacidad, elasticidad y fuerza de la masa; las enzimas que se eligieron para este fin, fueron la 3 y la 6 obteniéndose así la siguiente fórmula.

MEZCLA	CONCENTRACION DE ENZIMAS
G-8.X	(0.221 gr) de enzima 17' (0.20 gr) de enzima 5 (0.12 gr) de enzima 15 (0.18 gr) de enzima 3 (0.001 gr) de enzima 6 *

\* De la enzima 6 se hizo una dilución de 0.5 gr de enzima en 49.5 gr de fécula para poder aplicarla a la mezcla con mayor facilidad.

n) Se hicieron pruebas de panificación, comparando la mezcla con 1.5 gr de enzima a sustituir. Dieron muy buenos resultados por lo que se quedó como la mezcla final.

o) Después de la tabla 2 sólo se presentan las gráficas de los resultados obtenidos en la mezclas G-8X, G-8, G, G-1, G-2, G-3, G-4.1.1 y G-7.1.1, debido a que estas mezclas sustituyen el producto deseado satisfactoriamente.

Se grafica los resultados obtenidos de la tenacidad y extensibilidad de cada mezcla y se comparan contra los resultados de las misma variables del producto a sustituir.

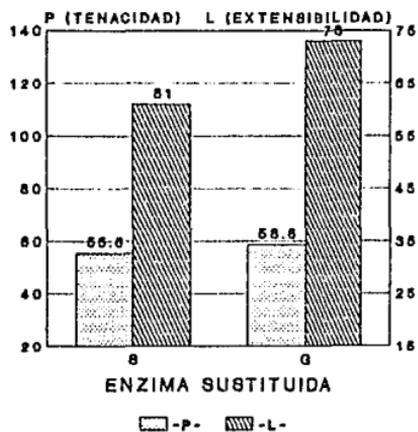
Tabla 2. Resultados de mezclas enzimáticas

Mezcla	Enzimas	P	G	P/G	L	W	Concen
S	1	56.37	19.85	2.83	79	206.8	0.08%
A	5, 16	24.2	29.2	0.82	173	110.6	0.732% 1.32 %
B	2, 16, 17	38.22	18.75	2.03	71	123.21	0.371% 0.408% 0.028%
C	2, 6, 17	31.1	11.34	2.74	68	115.6	0.52 % 0.72 % 0.17%
S-1	1	73.1	15.3	4.7	47	165.3	0.08%
D	5, 16	57.1	16.9	3.37	58	158.7	0.63 % 1.26 %
E	2, 16	52.8	18.25	2.8	67	149.43	0.17 % 0.86 %
S-2	1	82.86	16.2	5.11	53	209.99	0.08%
F	4, 13, 14	75.1	17	4.41	58	180.43	0.001% 0.03 % 0.04 %

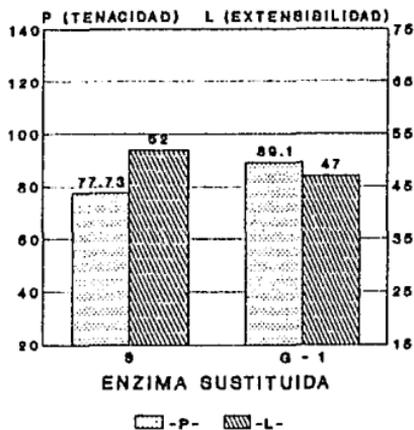
Mezcla	Enzimas	P	G	P/G	L	W	concent
H	5, 12, 14, 16	86.1	17.3	4.97	61	230.86	0.008% 0.024% 0.034% 0.017%
S-3	1	55.6	17.4	3.19	61	170.82	0.08%
G	5, 12, 16	58.6	19.6	2.9	73	202	0.016% 0.04% 0.032%
S-4	1	77.73	16	4.8	52	141.19	0.08%
G-1	5, 12, 16	89.1	15.1	5.9	47	176.25	0.008% 0.032% 0.024%
G-2	5, 12, 15	94.96	15.4	6.1	48	185.2	0.016% 0.04 % 0.0004
G-3	5, 12, 15	99.3	14.6	6.80	45	173.9	0.012% 0.036% 0.00004
S-5	1	135.66	13	10.4	34	187.6	0.08%
G-4	3, 15, 17	133.4	13.8	9.66	38	177.23	0.012% 0.0004 0.012%

Mezcla	Enzimas	P	G	P/G	L	W	concent
G-5	3, 15, 17	102.66	14.6	7.03	44	174.42	0.008% 0.0004 0.008%
G-6	3, 15, 17	120.2	14.2	8.46	42	164.08	0.012% 0.0004 0.024%
G-7	3, 15, 17	140.8	12.8	11	33	172.65	0.008% 0.00004 0.024%
S-6	1	138.62	18	7.70	37	190.2	---
G-4.1.1	5, 15, 17'	137.2	19	7.22	42	186.6	---
G-7.1.1	5, 15, 17'	143.7	18.2	7.89	36	176.23	---
G-8	5, 15, 17'	141.5	18.7	7.56	40	181.415	---
S-7	1	60.5	16.9	3.57	58	145.90	---
G-8.X	3, 5, 6, 15, 17'	67.4	18.1	3.72	62	174.6	---

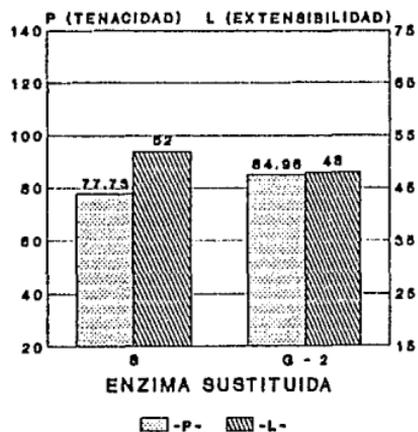
### MEZCLA G



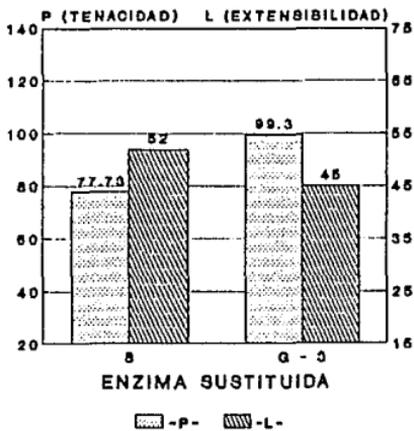
### MEZCLA G - 1



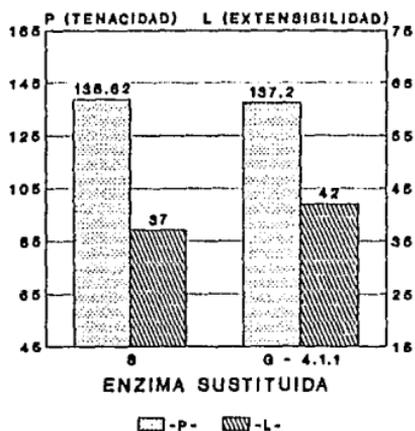
### MEZCLA G - 2



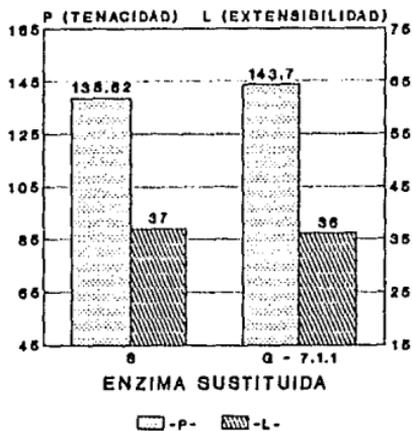
### MEZCLA G - 3



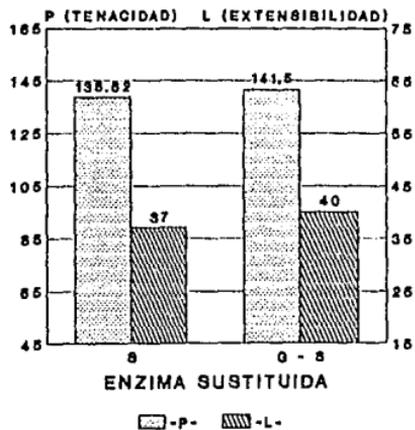
### MEZCLA G - 4.1.1



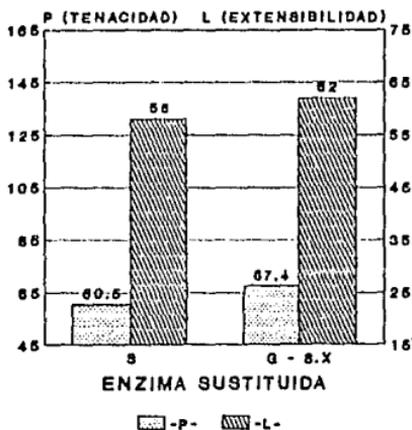
### MEZCLA G - 7.1.1



### MEZCLA G - 8



### MEZCLA G - 8.X



///

### 5.3 Resultados de panificación

5.3.1 En la tabla 3, se dan los resultados obtenidos en las pruebas de panificación de las mezclas enzimáticas factibles a sustituir el producto enzimático deseado.

A continuación se da la explicación de la tabla:

a) Todas las pruebas se hicieron por duplicado y triplicado; y las mezclas que dieron resultados satisfactorios fueron probadas por un panadero.

b) Significados de claves utilizadas en la tabla:

S = Enzima a sustituir

Mez = mezcla

b = Blanco

Tot = Suma de los puntos

#### Significado de claves

CLAVE	SIGNIFICADO	VALOR EN PUNTOS
Vo *	volumen	10
C.C	color de corteza	8
Sm	simetría de la forma	3
Un	uniformidad	3
Cz	características de la corteza	3
Cr	características de rompimiento	3
Gr	grano	10
Cm	color de la miga	10
Ar	aroma	10
Sa	sabor	15
Ma	masticabilidad	10
Te	textura	15
	total	100

\* En la tabla el volumen se divide en:

cc = Centímetros cúbicos de cada pieza de pan  
P = Puntos obtenidos dentro de la evaluación.

El volumen obtenido en centímetros cúbicos no entra dentro de los puntos para el total de la evaluación.

c) Las pruebas de panificación para todas las mezclas enzimáticas se hicieron bajo las mismas condiciones.

- 1) Tiempo de fermentación fuera de la cámara 20 min
- 2) Tiempo de fermentación en cámara 45 - 60 minutos
- 3) Tiempo de horneado 40 minutos

d) En la tabla 3 se dan los resultados de panificación con las enzimas directas y en la 3.1 con el mejorante incluido.

f) Después de las tablas sólo se presentan las gráficas de resultados obtenidos en las mezclas G-8X, G-8, G, G-1, G-2, G-3, G-4.1.1 y G-7.1.1, ya que son las mezclas que sustituyen satisfactoriamente al producto a sustituir.

En las gráficas se comparará el volumen (cc) y el total de los puntos de la evaluación de cada mezcla enzimática contra las mismas variables de un blanco y el producto a sustituir.

Tabla 3. Resultados de panificación( Enzimas directas)

Mez	Volumen		C.C	Sm	Un	Cz	Cr	Gr	Cm	Ar	Sa	Ma	Te	Tot
	cc	p												
S	300	6.8	8	3	3	3	2	8	9	10	13	10	13	88.8
b	230	5.2	8	3	3	3	2	7	9	9	13	10	13	85.2
A	260	5.9	8	3	3	3	2	7	9	9	13	10	13	86.9
B	270	6.1	8	3	3	3	2	7	9	9	13	10	13	87.1
C	250	5.8	8	3	3	3	2	7	9	9	13	10	13	86.8
D	230	5.2	8	3	3	3	2	7	9	9	13	10	13	86.2
E	235	5.3	8	3	3	3	2	7	9	9	13	10	13	86.3
F	280	6.3	8	3	3	3	2	7	9	9	13	10	13	88.3
G	340	7.7	8	3	3	3	2	8	9	10	13	10	13	89.7
G-1	320	7.2	8	3	3	3	2	8	9	10	13	10	13	89.2
G-2	315	7.1	8	3	3	3	2	8	9	10	13	10	13	89.1

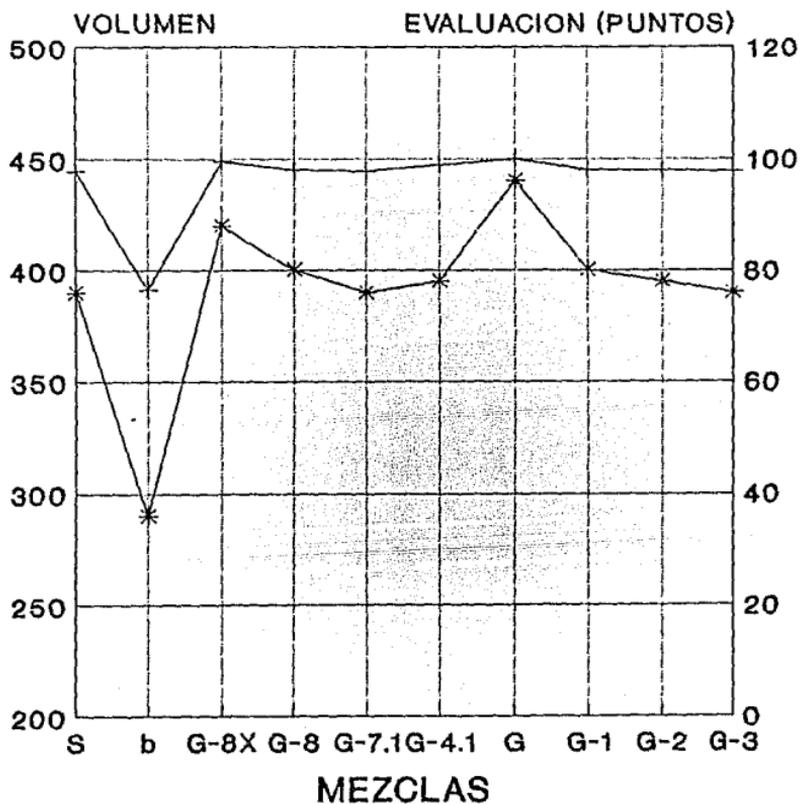
h/1

G-3	300	6.8	8	3	3	3	2	8	9	10	13	10	13	88.2
G-4	330	7.5	8	3	3	3	2	8	9	10	13	10	13	89.5
G-5	280	6.3	8	3	3	3	2	8	9	10	13	10	13	88.3
G-6	290	6.5	8	3	3	3	2	8	9	10	13	10	13	88.5
G-7	320	7.1	8	3	3	3	2	8	9	10	13	10	13	89.1

Tabla 3. Resultados de panificación(mejorante completo)

Mez	Volumen		C.C	Sm	Un	Cz	Cr,	Gr	Cm	Ar	Sa	Ma	Te	Tot
	cc	p												
S	390	8.8	8	3	3	3	3	9	10	10	15	10	15	97.8
G-8x	420	9.5	8	3	3	3	3	10	10	10	15	10	15	99.5
G-7.1 .1	390	8.8	8	3	3	3	3	9	10	10	15	10	15	97.8
G-8	400	9.0	8	3	3	3	3	9	10	10	15	10	15	98
G-4.1 .1	395	8.9	8	3	3	3	3	9	10	10	15	10	15	97.9
G	440	10	8	3	3	3	3	10	10	10	15	10	15	100
G-1	400	9.0	8	3	3	3	3	9	10	10	15	10	15	98
G-2	395	8.9	8	3	3	3	3	9	10	10	15	10	15	97.9
G-3	390	8.8	8	3	3	3	3	9	10	10	15	10	15	97.8
b	290	6.5	8	3	3	3	3	8	10	10	14	10	15	76.5

# RESULTADOS EN PAN



\* -V- + -E-

#### 5.4 Costo y actividades de mezclas enzimáticas

5.4.1 En la tabla 4 se dan las actividades y costos de la mezclas enzimáticas que dieron mejores resultados en alveogramas, pero especialmente en las pruebas de panificación.

5.4.2 El costo de algunas mezclas enzimáticas no se presenta, debido a que no se pudo obtener el precio de alguna de las enzimas que componen a esta mezcla.

5.4.3 A continuación se dan las actividades y precio de cada una de las enzimas a Enero de 1991.

ENZIMA	ACTIVIDAD	PRECIO
1	2,000 SKB/gr	\$ 54,200.00/ Kg
3	350 SKB/gr + 4500 Hu/gr	\$ 7,023.00/ Kg
5	900 Du/gr	\$ 147,200.00/ Kg
6	340,000 SKB/gr	\$ 23,520.00/ Kg
12	1,500 SKB/gr	\$ -----
15	100,000 SKB/gr	\$ 167,550.00/ Kg
16	2,300 SKB/gr	\$ 51,500.00/ Kg
17'	132 GCU/gr	\$ 71,630.00/ Kg
FECULA	-----	\$ 950.00/ Kg

5.4.4 La actividad da la mezcla se determinó de acuerdo a las enzimas que formaban a la mezcla, la concentración de cada una de éstas en la mezcla y su actividad.

Tabla 4. Costo y Actividades de Mezclas Enzimáticas

Mezcla	Composición	Concent de Enzimas	Actividad	Precio	Diferencia con Enz 1
1	100% enzima 1	1.5 gr	3,000 SKB	\$ 81.3	---
G	36.4 % enzima 16 18.24 % enzima 5 45.60 % enzima 12	(0.54 gr) (0.27 gr) (0.67 gr)	2257.5 SKB + 243 DU	---	---
G-1	37.5 % enzima 16 12.5 % enzima 5 50 % enzima 12	(0.405 gr) (0.135 gr) (0.54 gr)	1741.55 SKB + 125 DU	---	---
G-2	0.27 % enzima 15 12.3 % enzima 5 30.77 % enzima 12 56.71 % fécula	(0.006 gr) (0.27 gr) (0.675 gr) (1.242 gr)	1612.5 SKB + 243 DU	---	---
G-3	0.29 % enzima 15 9.85 % enzima 5 29.26 % enzima 12 60.58 % fécula	(0.006 gr) (0.202 gr) (0.60 gr) ( 1.242 gr)	1500 SKB + 181.8 DU	---	---
G-4.1.1	7.22 % enzima 17' 9.66 % enzima 5 5.78 % enzima 15 77.34 % fécula	(0.15 gr) (0.20 gr) (0.12 gr) (1.692 gr)	19.8 GCU + 180 DU + 12000 SKB	\$ 61.89	- 31.36 %
G-7.1.1	10.9 % enzima 17' 7.17 % enzima 5 4.30 % enzima 15 77.5 % fécula	(0.306 gr) (0.20 gr) (0.12 gr) ( 2.16 gr)	40.3 GCU + 180 DU + 12000 SKB	\$ 73.50	- 10.61 %

Mezcla	Composición	Concent de enzimas	Actividad	Precio	Diferencia con la enz 1
G-8	9.05 % enzima 17' 8.19 % enzima 5 4.9 % enzima 15 78.1 % fécula	(0.221 gr) (0.20 gr) (0.12 gr) (1.906 gr)	29.17 GCU + 180 DU + 12000 SKB	\$ 67.18	- 21.01 %
G-8 X	8.10 % enzima 17' 7.33 % enzima 5 4.39 % enzima 15 6.59 % enzima 3 0.03 % enzima 6 73.53 % fécula	(0.221 gr) (0.20 gr) (0.12 gr) (0.18 gr) (0.001gr) (2.006gr)	29.17 GCU + 180 DU + 810 HU + 340 MWU + 12063 SKB	\$ 68.55	- 18.58 %

## VI DISCUSION DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES

### 5.1 Enzimas

5.1.1 Las enzimas analizadas con el fin de elaborar la mezcla enzimática, se escogieron por las siguientes razones:

#### 5.1.1.1 Alfa-amilasas:

Se eligieron estas enzimas debido a que se encuentran en niveles muy bajos en la harina de trigo, esto provoca que no se lleve a cabo una hidrólisis adecuada del almidón, y por lo tanto haya cantidades insuficientes de azúcares fermentables que no permiten que la levadura se active a su máximo, y que haya insuficiencias en la gasificación al momento del horneado. La suplementación apropiada con alfa amilasas es necesaria para poder obtener un buen control sobre la calidad del pan, una fermentación uniforme, además, con la suplementación de alfas-amilasas a la harina, se obtienen azúcares libres que permiten que se lleve a cabo la reacción de Maillard, y por lo tanto, se obtiene un pan con mejor color.

#### 5.1.1.2 Amiloglucosidasas:

Estas enzimas hidrolizan enlaces del almidón que las alfa y beta-amilasas no pueden, dando así mayor cantidad de glucosa aprovechable para la levadura y mayor cantidad de azúcar residual para un mejor desarrollo del color y sabor del pan.

#### 5.1.1.3 Hemicelulasas y Pentosanasas:

Se escogieron estas enzimas, debido a que, son capaces de producir pentosas, las cuales se entrecruzan con las proteínas, dando como resultado una red carbohidratos-proteína que retiene el gas formado durante la fermentación con mayor eficiencia.

#### 5.1.1.4 Celulasas:

Se eligieron estas enzimas, ya que son capaces de convertir la celulosa; que no puede ser hidrolizada por amilasas, en glucosa, dando como resultado mayor cantidad de azúcares fermentables que ayudan a obtener un pan con mayor volumen y sabor, y también nos proporcionan mayor cantidad de azúcares residuales los que proporcionan al pan una mejor corteza y un buen color.

Las enzimas anteriores se escogieron para llevar a cabo el experimento por su acción en la harina y los beneficios que trae

Tabla 5. Efectos de enzimas

Enz.	Tenacidad	Expansión	Elasticidad	Extensibilidad	Fuerza
1	baja 18.13 %	sube 10.43 %	baja 28.2 %	sube 19 %	baja 24.06 %
2	sube 2.05 %	sube 7.20 %	baja 4.9 %	sube 7.8 %	baja 13.32 %
3	baja 19.19 %	sube 7.55 %	baja 28.4 %	sube 7.2 %	baja 19.39 %
4	baja 129.4 %	sube 26.7 %	baja 191.3 %	sube 61.53 %	baja 52.82 %
5	baja 2.40 %	sube 1.16 %	baja 3.65 %	baja 3.2 %	baja 16.99 %
6	sube 3.83 %	baja 4.24 %	sube 8.17 %	baja 18.5 %	baja 23.81 %
7	baja 11.41 %	baja 1.25 %	baja 3.46 %	baja 6.12 %	baja 19.8 %
8	baja 90.44 %	sube 21.7 %	baja 132.5 %	sube 51.92 %	baja 38.49 %
9	baja 21.21 %	sube 12.42 %	baja 36.29 %	sube 19.23 %	baja 4.46 %
10	baja 150.6 %	sube 24.84 %	baja 212.9 %	sube 57.69 %	baja 77.43 %
11	baja 269.6 %	sube 48.44 %	baja 451.0 %	sube 111.53 %	baja 146.18 %
12	baja 1.02 %	baja 5.96 %	sube 6.58 %	baja 14.54 %	baja 27.13 %

201

Enz	Tenacidad	Expansión	Elasticidad	Extensibilidad	Fuerza
13	baja 8.04 %	baja 5.19 %	baja 15.78 %	baja 14.34 %	baja 71.38 %
14	baja 43.27 %	sube 2.29 %	baja 28.27 %	sube 19.04 %	baja 24.06 %
15	baja 36.05 %	sube 57.98 %	baja 114 %	sube 107.5 %	sube 11.78 %
16	baja 4.58 %	baja 2.99 %	baja 3.8 %	baja 12.28 %	baja 44.33 %
17	baja 59.44 %	sube 22.55 %	baja 96.20 %	sube 37.5 %	baja 41.73 %
19	baja 25.17 %	sube 15.1 %	baja 45.45 %	sube 30 %	baja 231.19 %

5.1.2 Por los resultados obtenidos en los alveogramas de cada una de las enzimas ( tabla 1 ), se resume en la tabla 5 el efecto de cada enzima sobre la harina.

Las enzimas afectan directamente en la tenacidad o expansión de una masa, ya que la extensibilidad, elasticidad y fuerza están dadas de acuerdo a las dos primeras variables, es obtiene del area bajo la curva que forman éstas.

Las enzimas que suben la tenacidad, en este caso dos, una alfa-amilasa fungal y una alfa-amilasa bacterial con actividad proteolítica muy baja las dos, actuaron en la harina como un oxidantes esto es la actividad proteolítica tan baja dió lugar a que se formaran nuevos enlaces disulfuro que dieran más tenacidad a las proteínas y por lo tanto a la masa.

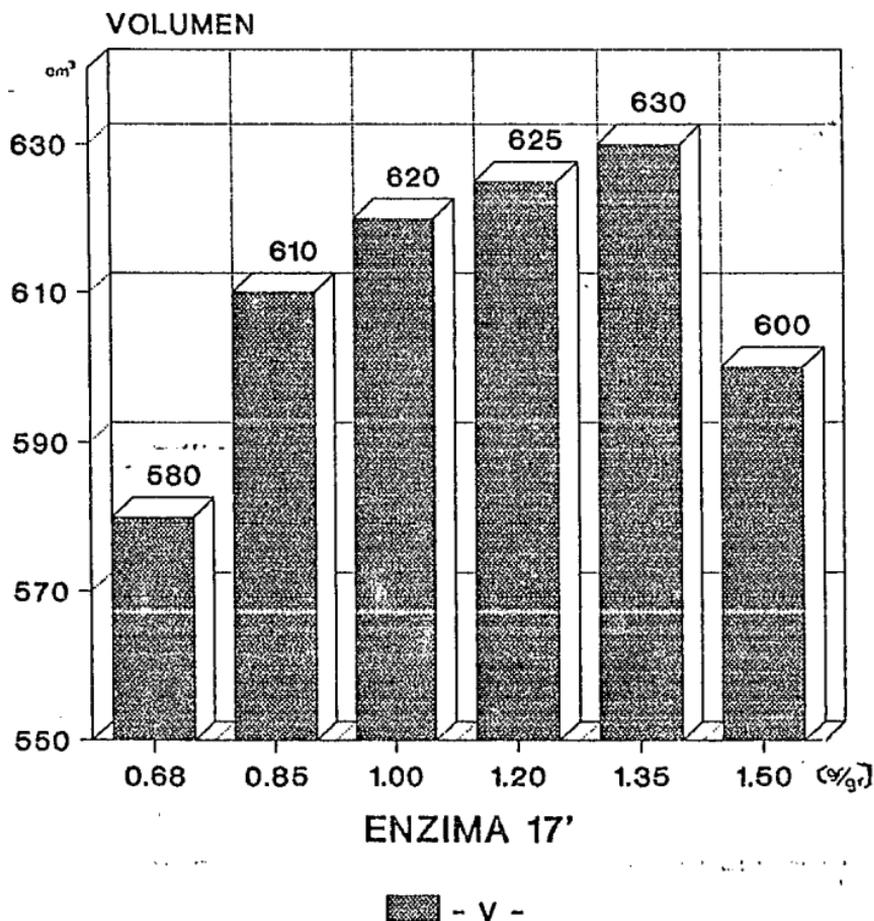
## 5.2 Mezclas Enzimáticas

Por los resultados obtenidos en los alveogramas y en las pruebas de panificación, se concluye que la mezcla denominada con la letra " G " es la que da resultados mas satisfactorios, así también la mezclas G-1, G-2 y G-3 dieron buenos resultados. Estas mezclas están formuladas con la enzima " 12 " la cual contiene pentosanases, a lo que se le atribuye tan buenos resultados. Las pentosanases forman pentosas de la hemicelulosa de las harinas, y éstas se entrecruzan con las proteínas que constituyen a la harina formando una red pentosa-proteína fuerte y resistente; lo que le concede a la masa durante la fermentación más tolerancia, esto es que tenga más capacidad de retener el CO<sub>2</sub> formado en esta etapa y por lo tanto la etapa de fermentación se puede alargar. Teniendo como resultado de esto una pieza de pan con mayor volumen que las piezas de pan hechas con harinas adicinadas solo con amilasas.

La mezcla " G " no fue la que sustituyo al producto deseado debido a que la enzima " 12 " no se pudo encontrar en el mercado nacional, sin embargo, es una realidad que las pentosanases tienen dentro de la industria panadera un papel muy importante, pero que aún hay mucho por investigar y experimentar sobre estas enzimas.

Al no poderse conseguir las enzimas que conformaban a la mezcla " G ", se sustituyeron estas enzimas por otras similares y como resultados de varios ensayos ya expuestos anteriormente se formularon dos mezclas enzimáticas que dieron buenos resultados comparados con el producto a sustituir, estas mezclas son las denominadas como "G-4.1.1" y "G-7.1.1". Se hizo una tercera formulación de estas dos mezclas debido a que la enzima " 17' " la cual sustituyo a la " 12 ", a una concentración mayor de la óptima bajaba el volumen del pan. esto se demuestra en la siguiente gráfica( Efecto de enzima 17' ). Esta gráfica demuestra los volúmenes

# EFEECTO DE ENZIMA 17'



La gráfica muestra que la enzima tiene una concentración óptima de utilización del sustrato ( celulosa, hemicelulosa, pentosanasa..) y que si se aumenta la cantidad de enzima por arriba de esta concentración, el volumen del pan baja.

La concentración óptima es aquella donde existe la cantidad suficiente y necesaria de enzima para reaccionar con el sustrato presente y esto cause el mejor efecto o beneficio al producto final. El hecho de que el volumen del pan baje a una mayor concentración de la óptima se puede deber a:

a) La cantidad de celulasa adicionada a la harina por arriba de la concentración óptima, hidroliza mucho a la celulasa y esto ocasiona que la harina pierda rigidez. Esto se puede deber a que el producto de la hidrólisis es glucosa y junto con la glucosa formada por alfa-amilasas se forme más gas de lo que las proteínas de las células puedan retener dando nos como resultado una masa floja y un pan con poco volumen. Además hay que recordar que la celulosa se encuentra en las paredes celulares de los granos y ésta le proporciona rigidez y fuerza(40).

b) La celulosa en la harina refinada se encuentra en niveles bajos por lo tanto hay un nivel bajo de sustrato para la celulosa; esto hace que sea más facil de saturar este sustrato con pequeñas cantidades de enzima. Al estar saturado el sustrato quedan libres moléculas de enzima la cual puede afectar en la velocidad de catalisis de otras enzimas por lo que actuaría como un inhidor a lo que se le llama inhibición competitiva (68). Esto provocaría que no se tuvieran los elementos necesarios para un buen desarrollo en el pan.

El hecho de que no se presentara este problema de baja en volumen a mayor concentración con las demás enzimas, se le atribuye a que los sustratos de éstas son las proteínas y el almidón de la harina, constituyéndola en niveles altos; por lo que para poder llegar a una saturación del sustrato se necesitan cantidades mayores de enzimas y a las cuales no se llegaron. Además el uso de amilasas y proteasas ya está muy estudiado y se trabajaron dentro de la cantidades recomendadas, mientras que las celulasas apenas están siendo estudiadas en el campo de la industria panadera por lo que se experimento las concentraciones a utilizar.

### 5.3 Sustrato

Como mezcla final se eligió a la " G-8X " , debido a que sus resultados fueron bastante satisfactorios comparados con los del producto a sustituir. La mezcla G-8X cumple los objetivos de este

trabajo, puesto, que sustituye al producto enzimático en cuestión y se logró reducir el costo.

Esta mezcla está formulada con las siguientes enzimas:

- a) Celulasas 30.60 %
- b) amiloglucosidasas 44.32 %
- c) alfa-amilasas fungal 24.93 %
- d) Alfa-amilasas bacterial 0.13 %
- e) proteasas en muy baja concentración.

La concentración de proteasas no se sabe debido a que no se adicionó una cantidad conocida, sin embargo, una de las alfas amilasas utilizadas está estandarizada con cantidades muy pequeñas de proteasas.

En el siguiente cuadro se dan los datos comparativos entre la mezcla final y la enzima a sustituir sobre una misma harina.

MEZCLA	P	G	P/G	L	W	VOLUMEN	COSTO (s)	ACTIVIDAD
b	69.2	11.4	6.07	27	220.74	290 cc	---	-----
1	60.5	16.9	3.57	58	145.90	390 cc	54200	3000 SKB
MEZ G-8X	67.4	18.1	3.72	62	174.6	420 cc	45712	12063 SKB 180 DU 810 HU 340 MWU 29.17 GCU
% de diferencia entre enzimas.	10.2	7.1	4.20	16.43	16.43	7.6	18.58	-----

- b = blanco (harina sin aditivos)
- 1 = Producto a sustituir
- p = Tenacidad (m/m)
- G = Expansión
- L = Extensibilidad (m/m)

W = Fuerza (x 10 joules)  
P/G = Elasticidad  
Costo = pesos por kilogramos

De este cuadro se puede concluir que tanto la enzima a sustituir como la mezcla G-8X, reducen la tenacidad de la harina, pero que aumentan la expansión y por lo tanto la elasticidad, lo que se refleja en el volumen del pan. El porcentaje de diferencia en el cuadro anterior indica que hay diferencia entre los resultados en alveogramas de la enzima a sustituir y de la mezcla G-8X y que los resultados obtenidos en el volumen del pan y en el costo del producto final son mejores en la mezcla G-8X. En cuanto a las actividades no pueden ser comparadas debido a que no se sabe que actividades secundarias contiene la enzima a sustituir, sin embargo, la mezcla G-8X contiene 4 veces más actividad amilásica que la enzima a sustituir.

La mezcla G-8X tiene la ventaja sobre el producto a sustituir que da piezas de pan con un volumen más grande y característica de rompimiento mejor, con el mismo color, sabor, aroma, miga, textura, masticabilidad a un costo más bajo. Y la desventaja que tiene es que el producto a sustituir es un solo polvo, mientras que la mezcla tendrá que ser preparada.

#### Conclusiones:

México es un país que tiene un gran consumo de pan, la mayoría del pan esta hecho por panaderías tradicionales y un porcentaje menor por industrias que cada día crecen y se automatizan más. La gran demanda del pan y la vida más activa que se tiene en la actualidad han provocado que el desarrollo de agentes mejoradores para las harinas se haya incrementado en los últimos años. Aunque se tiene conocimiento de la elaboración del pan desde la época de los egipcios realmente el estudio con bases químicas se ha dado en estos últimos años. Por esto mismo todavía hay mucho por investigar y experimentar acerca de como acelerar y mejorar la elaboración del pan.

En México hay mucha gente que se dedica a la fabricación del pan, pero muy poca la que se dedica a la investigación de su mejoría; prueba de esto es que solo hay 3 o 4 empresas que se dedican a la fabricación de aditivos para la elaboración del pan.

Dentro de los aditivos utilizados para mejorar el pan y su elaboración, las enzimas tienen un lugar importante pero el uso de éstas se ha limitado a alfa, beta-amilasas y proteasas tanto bacterianas como fungales, y no se ha hecho por experimentar con otras enzimas que podrían tener un efecto benéfico sobre algunas características deseadas en el pan.

Con este trabajo se da una pequeña prueba de lo anteriormente dicho ya que la mezcla enzimática desarrollada en éste está formulada con una enzima que comunmente no es utilizada en el

area del pan, "la celulasa" además que se trabajo con pentosanasas y hemicelulasas obteniendose resultados muy satisfactorios.

En cuanto a la mezcla G-8X puedo concluir que logró cumplir con los objetivos de la tesis, mejorar las propiedades reológicas del pan bajando el costo del producto que se deseaba sustituir. Sin embargo, pienso se podrían mejorar estos resultados si se logrará conseguir en el mercado y formular una mezcla con las siguientes enzimas:

a) Oxidasa sulfihídrica. Debido que ésta, ayudaría a formar puentes disulfuros en el gluten, lo que daría como resultado una masa más fuerte y resistente, por lo tanto un pan con mejor tolerancia y mayor volumen.

b) Pululanasa. Debido a que esta enzima, rompe los puntos de ramificación entre la amilopectina y la amilosa, dando como resultado maltotriosas que pueden ser fácilmente atacadas por otras carbohidrasas, proporcionando así, mas rápidamente y mayor cantidad de glucosa.

No se utilizaron estas enzimas debido a que no se encuentran aún en el mercado. Pero, con el uso de estas dos enzimas junto con las pentosanasas, alfa-amilasas y amiloglucosidasas, se lograrían resultados muy interesantes.

## VII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- 1) Baduí Dergal Salvador; QUIMICA DE LOS ALIMENTOS; Editorial Alhambra 1a edición, páginas 207,224,227,233; México 1981.
- 2) Carbajal Gil Manuel; ENZIMAS(AMILASAS Y PROTEASAS) EN MOLINERIA, PANADERIA Y GALLETERIA; Revista Continental Pan, páginas 1 - 7, México 1988.
- 3) López- Mungía; LAS ENZIMAS Y LOS ALIMENTOS; Tecnología de Alimentos vol 21, No 2; páginas 22-30 , México 1986 Organo Oficial de la ATAM.
- 4) Kent Jones; TECNOLOGIA DE LOS CEREALES; Editorial Acribia 2a edición, páginas 134,135; Zaragoza España 1971.
- 5) Valle Vega P; ENZIMAS PROTEOLITICAS EN LA INDUSTRIA ALIMENTOS; Tecnología de Alimentos volumen 19, número 2 ,1989; páginas 4 -9.
- 6) G:E Inglett; AMYLO-OLIGOSACCHARIDE FORMATION FROM B.STEARO--THERMOPHILUS ALFA-AMYLASE ACTION ON STARCHES; Journal of -- food science volumen 55, número 2, 1990; páginas 560,561.
- 7) Usha Bajwa and G:S Bains; SUPPLEMENT OF GLYCEROLYSED OILS - AND ALPHA-AMILASES IN BREADMAKING. III. CHANGES IN WATER -- SOLUBLE COMPONENTS DURING AGEING OF BREAD; Journal of food science and technology volumen 27, número 3, 1990; páginas 153-155.
- 8) John Ching-Ming and others; SENSORY AND NUTRITIONAL EVALUATION OF WHEAT BREAD SUPPLEMENTED WITH SINGLE CELL PROTEIN - FROM TORULA YEAST (CANDIDA UTILIS); Journal of food science volumen 51, número 3, 1986; páginas 647-651.
- 9) J:A:D:Ewart; BAKING QUALITY AND GLUTEN AMIDE LEVEL; Journal of food science and technology volumen 17, número 3, 1982; páginas 365-372.
- 10) M.E.Parish and D.E. Carroll; EFFECTS OF COMBINED ANTIMICROBIAL AGENTS ON FERMENTATION INITIATION BY SACCHAROMYCES -- CEREVISIAE IN A MODEL BROTH SYSTEM; Journal of food science and technology volumen 17, número 3, 1982; páginas 240-242.
- 11) Y.C Lee and K.T.Kim; GELATINIZATION AND LIQUEFACTION OF - STARCH WITH A HEAT STABLE ALPHA- AMYLASE; Journal of food science volumen 55, número 5, 1990; páginas 1365, 1366.

- 13) Li-fu Chen and Cheng-shung Gong; FERMENTATION OF SUGARCANE BAGASSE HENICELLULOSE HYDROLYSATE TO XYLITOL BY A HYDROLYSATE-ACCLIMATIZAD YEAST; Journal of food science volumen 50 número 1, 1985; páginas 226-228.
- 14) K.S. Sekhon and others; USE OR TRITICALE FOR BREAD, COOKIE AND CHAPATI MAKING; Journal of food science and technology volumen 17, número 1, 1980; páginas 233-235.
- 15) H.P.S. Nagi and others; STUDIES ON THE MILLING, RHEOLOGICAL AND BAKING CHARACTERISTICS OF TRITICALE AND WHEAT BLENDS; Journal of food science and technology volumen 21, número 6, 1984; páginas 364-366.
- 16) Alimentos procesados volumen 7, número 7, 1988; EL PROCESO Y MEZCLA DE LAS MASAS DE PAN; páginas 22-24.
- 17) Alimentos procesados volumen 6, número 3, 1987; ESTUDIOS - SOBRE LA HARINA Y SU FUNCIONAMIENTO; página 72.
- 18) Alimentos procesados volumen 7, número 9, 1988; SIMPOSIO - SOBRE INNOVACIONES EN LA PANADERIA LATINOAMERICANA; páginas 60-61.
- 19) Fawcett, P; FUNCIONALIDAD DE LOS ALMIDONES; INFOTEC volumen 7, número 1, 1985; páginas 25-27.
- 20) C.Nkonge and G.M. Ballance; ENZYMIC SOLUBIZATION OF CEREAL PROTEINS BY COMMERCIAL PROTEASES; Cereal chemistry volumen 61, número 4, 1984; páginas 316-320.
- 21) Godfrey, Tony; INDUSTRIAL ENZYMOLOGY, THE APLICACION OF - ENZYMES IN INDUSTRY.
- 22) Uffe Rugbjerg; APPLICATION OF ENZYMES IN BAKING; Grindsted products A/S, Barcelona 1987.
- 23) Paper of industrial application of enzymes; THE NATURE OF ENZYMES; Grindamyl a series 1987.
- 24) Paper of industrial application enzymes used for flour -- improvement, Novo 1987.
- 25) Blanco Paredes Adela; DISEÑO Y DESARROLLO DE PRACTICAS PARA IMPLEMENTAR EN EL PROGRAMA DE ENZIMOLOGIA APLICADA A LOS -- ALIMENTOS; tesis UNAM 1980.
- 26) Sagaon Rioja Margarita; EL USO DE LAS ENZIMAS EN LA INDUSTRIA DE LA PANIFICACION; tesis UNAM 1970.
- 27) González Ortiz Miguel; ENZIMAS PARA ALIMENTOS EN MEXICO; tesis UNAM 1981.

- 28) B.J.F. Hudson and A.O. Ogunsua; THE EFFECTS OF FIBRE, -- STARCH DAMAGE AND SURFACTANTS ON THE BAKING QUALITY OF -- WHEAT/ CASSAVA COMPOSITE FLOURS; Journal of food science volumen 2, número 1, 1976; páginas 129-136.
- 29) N.R. Nayini and P. Markakis; EFFECT OF FERMENTATION TIME ON THE INOSITOL PHOSPHATES OF BREAD; Journal of food science volumen 48, número 1, 1983; páginas 262-263.
- 30) R.C.Hoseney and others; FUNCTIONAL ( BREADMAKING) AND BIO--CHEMICAL PROPERTIES OF WHEAT FLOUR COMPONENTS. VI. GLIADIN-LIPID-GLUTENIN INTERACTION IN WHEAT GLUTEN; Cereal chemistry volumen 47, número 2, 1970; páginas 135-139.
- 31) H.P. Wehrli and Y.Pomeranz; A NOTE ON THE INTERACTION BETWEEN GLYCOLIPIDS AND WHEAT FLOUR MACROMOLECULES; Cereal - chemistry volumen 47, número 2 1970; páginas 161-162.
- 32) Earl.W. Cole; SOME PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF WHEAT -- FLOUR HEMICELLULOSE IN SOLUTION; Cereal chemistry volumen - 46, número 4, 1969; páginas 382-390.
- 33) T.Yasunaga and others; GELATINIZATION OF STARCH DURING -- BREAD-BAKING; Cereal chemistry volumen 45, número 3, 1968; páginas 269-270.
- 34) J.R.Donelson and W.T.Yamazaki; ENZYMATIC DETERMINATION OF - STARCH IN WHEAT FRACTIONS; Cereal chemistry volumen 45, número 2, 1968; páginas 177-182.
- 35) Royl Whisteler and others; STARCH CHEMISTRY AND TECHNOLOGY; second edition; Ed Academic press INC; Orlando 1984.
- 36) K.F. Finney; BETTER NUTRITION FOR THE WORLD'S MILLIONS; -- sixth international cereal and bread congress; Ed American Association of cereal chemistry Inc, 1978.
- 37) George E. Inglett and Lars Munk; CEREALS FOR FOOD AND BEVERAGES; Ed Academic press, San Francisco 1980.
- 38) Código Latino Americano de Alimentos. VII Congreso Latino - Americano de Química, México 1959; páginas 272-274.
- 39) Alimentos procesados volumen 8, número 2, 1989; ENZIMAS, - SABOR Y CALIDAD VAN DE LA MANO; páginas 28-32.
- 40) J.B.S. Braverman; INTRODUCCION A LA BIOQUIMICA DE LOS ALIMENTOS; Ed El manual moderno S.A., 1980.
- 41) American Association of Cereal Chemists Incorporated; WHEAT CHEMISTRY AND TECHNOLOGY; Hlyka 1964.

- 42) Helen Charley; PREPARACION DE ALIMENTOS; Tomo 2, Ediciones Orientación S.A. de C.V, México 1988.
- 43) E. Primo Yúfera; QUIMICA AGRICOLA III ALIMENTOS; Editorial Alhambra, España 1979.
- 44) A. Illanes y G. Schaffeld; UTILIZACION DE ENZIMAS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA; Sociedad Chilena de Alimentos vol 6 -- # 2, 1981.
- 45) Alimentos procesados; LA FUNCION DE CARBOHIDRATOS HARINA DE DE TRIGO EN LA ELABORACION DE PAN; VOL 5 # 3, 1986.
- 46) Bennion M; FABRICACION DE PAN; Editorial Acribia Zaragoza, España 1970.
- 47) Armando Tapia; DETERIORO DEL PAN. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS; UNAM 1987.
- 48) Elena Junco; REVISION BIBLIOGRAFICA Y ELABORACION DEL PAN; 1986.
- 49) Edith Brito Miranda y Pedro Pablo Zuñiga; FUNDAMENTOS DE LA TECNOLOGIA DE OANIFICACION; UNAM 1987.
- 50) Scade J. Cereals, Ed Oxford University Press, U.K. 1975, - páginas 21, 22, 25 y 29.
- 51) Gianola. G ; LA INDUSTRIA MODERNA DE GALLETAS Y PASTELERIA; Editorial Paraninfe, España 1980, página 23.
- 52) Matz S.; CEREAL TECHNOLOGY; Avi PubltsHINGIO, U.S.A. 1970, páginas 31, 32, 157, 158, 159, 228, 229, 230, 608.
- 53) Daniel A; PREGUNTAS Y RESPUESTAS EN PANIFICACION; Editorial Americalee, Argentina 1979, página 15.
- 54) Charley H. ; FOOD SCIENCE; Editorial John Wiley and Sens, - U.S.A. 1982, páginas 159, 162, 206, 207, 213.
- 55) Pyler E.J.; BAKING SCIENCE AND TECHNOLOGY; vol I, II. Siebel publish C.O., U.S.A. 1979, páginas 549, 553, 564, 619, 620, 891, 893, 894 y 895.
- 56) Taylor R.; FOOD ADDITIVES; U.S.A. 1980, páginas 72 y 73.
- 57) Henika R, Zenner S.; THE BAKER'S DIGEST; vol 34 # 3, 1960, páginas 28 a la 32, 789 a la 793.
- 58) Fennema O.R. ; INTRODUCCION A LA CIENCIA DE LOS ALIMENTOS; Editorial Reverté, España 1982, páginas 285 y 568.

- 59) Marston P, Wannan T; THE BAKER DIGEST; vol 50 # 4, 1976, -  
páginas 24 y 28.
- 60) Desrosier N.W; ELEMENTOS DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS; Edi--  
torial Continental S.A., México D.F. 1983, páginas 477, 478  
y 479.
- 61) Pomeranz; WHEAT CHEMISTRY AND TECHNOLOGY; S.T. Paul Minn,  
American Association of Cereal Chemistry, U.S.A. 1971, pá--  
ginas 49-52, 157-159, 240-245.
- 62) Newbold M; THE BAKER'S DIGEST; vol 50 # 4, 1976, páginas -  
37-40.
- 63) Manual Carvajal G; LOS ADITIVOS (MADURADORES Y BLANQUEADO--  
RES) EN LA HARINA; Probst S.A.
- 64) Lehninger; BIOQUIMICA, LAS BASES MOLECULARES DE LA ESTRUC--  
TURA Y FUNCION CELULAR; Editorial Omega, Barcelona 1988.
- 65) Whitaker J.; PRINCIPLES OF ENZYMOLOGY FOR THE FOOD SCIENCE;  
Marcel Dekker, New York.
- 66) J.D.R Hille; EL USO DE LAS ENZIMAS EN LA MANUFACTURA DEL  
PAN EN GENERAL Y DE LA AMILASA H-400 EN PARTICULAR; Editado  
por GIST BROCADES, Barcelona 1989.
- 67) Pomeranz Y. (1971). In WHEAT CHEMISTRY AND TECHNOLOGY; Am --  
Assoc. Cereal Chem, St Paul Minn.
- 68) Eskin, Henderson, Townsed; BIOCHEMISTRY OF FOOD; Academic -  
Press, In. New York 1971, páginas 130 y 131.
- 69) Cheptel L.J; INTRODUCTION A LA BIOCHIMIE ET A LA TECHNOLO--  
GIE DES ALIMENTS; Editorial Techniove et Documentation, --  
Francia 1980, página 122.
- 70) Manuel Carvajal Gil; EL ALVEOGRAFO;
- 71) Salvador Badui Dergal; DICCIONARIO DE TECNOLOGIA DE LOS ---  
ALIMENTOS; Alhambra Mexicana, 1988.
- 72) ENERGY AND PROTEIN REQUIREMENTS REPORT OF A JOINT, FAO/WHO/  
ONU expert Consultation; World Health Organization, Genova  
1985, Technical Reports Series 724.