



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA QUÍMICA

**EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ENZIMA TRANSGLUTAMINASA EN
EL DESARROLLO DE PAN A BASE DE HARINA DE QUÍNOA**
(Chenopodium quinoa Willd)

Memoria para optar al Título Profesional de Ingeniero en Alimentos

PAULINA MARÍA VERGARA OLIVARES

Profesor Patrocinante

Eduardo Castro Montero
Ingeniero Civil Químico (PUC)
Magíster en Ciencias de los Alimentos (UCh)

Directores de Memoria

Eduardo Castro Montero
Ingeniero Civil Químico (PUC)
Magíster en Ciencias de los Alimentos (UCh)

Luis Puente Díaz
Ingeniero en Alimentos (UTEM)
Doctor en Tecnología de Alimentos (UPV)

Santiago, Chile
2011



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA QUÍMICA

**EFEECTO DE LA ADICIÓN DE ENZIMA TRANSGLUTAMINASA EN
EL DESARROLLO DE PAN A BASE DE HARINA DE QUÍNOA
(*Chenopodium quinoa Willd*)**

Memoria para optar al Título Profesional de Ingeniero en Alimentos

PAULINA MARÍA VERGARA OLIVARES

Profesor Patrocinante

Eduardo Castro Montero
Ingeniero Civil Químico (PUC)
Magíster en Ciencias de los Alimentos (UCh)

Directores de Memoria

Eduardo Castro Montero
Ingeniero Civil Químico (PUC)
Magíster en Ciencias de los Alimentos (UCh)

Luís Puente Díaz
Ingeniero en Alimentos (UTEM)
Doctor en Tecnología de Alimentos (UPV)

**Santiago, Chile
2011**

Dedico este trabajo a mis padres y a mi madrina, por su amor y apoyo incondicional durante toda mi vida

AGRADECIMIENTOS

Quiero partir agradeciendo a Dios, por guiar mis pasos desde el momento en que nací hasta el día de hoy. Por acompañarme durante los momentos dulces y sostenerme durante los más difíciles.

Agradezco al Sr. René Manríquez, de Prinal S.A., quién facilitó insumos para el desarrollo de este trabajo y también al Profesor Abel Guarda y la Profesora Ximena Valenzuela, por su invaluable colaboración en este trabajo, facilitándome las instalaciones del Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CECTA) de la USACH. También agradezco el tiempo y dedicación de las personas que conformaron los paneles sensoriales para llevar a cabo este trabajo.

Agradezco a los profesores de la Facultad que participaron en mi formación profesional y también personal; especialmente a mis directores de memoria. Quiero agradecer al Profesor Eduardo Castro, por sus consejos, su tiempo, su paciencia, y por impulsarme a ser una profesional cada día mejor; al Profesor Luis Puentes por su amistad y compañía, y especialmente por su motivación y sus consejos para la culminación de este trabajo. Agradezco también a los Profesores Isabel Fuentes y Fernando Valenzuela, quienes desde su enseñanza en clases hasta en conversaciones de pasillo han sido generosos compartiendo consejos y alegría.

Agradezco muy especialmente a don Carlos Zamora técnico del Laboratorio de Procesos y a don Eduardo Ibáñez técnico del Laboratorio de Operaciones Unitarias por su excelente disposición y compañía, gracias por facilitar mi trabajo durante mi estadía en sus respectivos laboratorios.

Quiero agradecer a mis grandes amigos, quienes me han dado apoyo, contención risas y valiosos consejos: Angelina, Natalia, Corahí, Alberto, Pamela, Laura, Elizabeth, Sergio, Tomás y Constanza; y muy especialmente a Denisse y Alejandra, quienes destinaron parte de su tiempo para colaborar en el desarrollo de este trabajo.

Finalmente agradezco a mi familia y a Pablo, por su respaldo y amor a toda prueba, por ser mi escudo frente a la vida y mi paz infinita; agradezco su confianza y dedicación en todo lo que emprendo; a ustedes les debo todo lo que tengo y soy, los amo.

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁGINA
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
INDICE GENERAL.....	v
TABLA DE CONTENIDOS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	x
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
RESUMEN.....	xiii
SUMMARY.....	xiv

TABLA DE CONTENIDOS

TEMA	PÁGINA
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO II: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	3
2.1. Hipótesis.....	3
2.2. Objetivo General.....	3
2.3. Objetivos Específicos.....	3
CAPÍTULO III: ANTECEDENTES GENERALES Y MARCO TEÓRICO.....	4
3.1. Antecedentes Generales.....	4
3.1.1. Antecedentes Generales de la Quínoa.....	4
3.1.1.1. Descripción botánica de la quínoa.....	4
3.1.1.2. Cultivo de la quínoa.....	7
3.1.1.3. Composición nutricional de la quínoa.....	8
3.1.1.4. Harina de quínoa.....	10
3.1.1.5. Aplicaciones Tecnológicas de la quínoa.....	10
3.1.2. Antecedentes generales Enzima Transglutaminasa.....	11
3.1.2.1. Condiciones para la reacción de entrecruzamiento...12	
3.1.2.2. Aplicaciones de la enzima transglutaminasa.....14	
en la industria alimentaria	
3.1.2.3. Enzima transglutaminasa y enfermedad celíaca.....16	
3.1.3. Elaboración de Pan.....	17
3.1.4. Deterioro del Pan.....	21
3.2. Marco Teórico.....	22
3.2.1. Metodología de superficie de respuesta.....	22
3.2.2. Análisis de Perfil de Textura.....	23
3.2.3. Perfil Sensorial Descriptivo.....	26
3.2.4. Vida Útil.....	26
CAPÍTULO IV: MATERIALES Y EQUIPOS.....	28

4.1. Materiales.....	28
4.1.1. Materia prima.....	28
4.1.2. Ingredientes.....	28
4.1.3. Materiales de laboratorio.....	28
4.1.4. Reactivos químicos.....	28
4.2. Equipos.....	29
CAPÍTULO V: METODOLOGÍA.....	30
5.1. Desarrollo del Trabajo.....	30
5.2. Desarrollo del Producto.....	32
5.3. Diseño Experimental.....	34
5.4. Caracterización de Muestras Elaboradas.....	35
5.4.1. Volumen y altura.....	35
5.4.2. Análisis de perfil de textura.....	36
5.5. Optimización de la Formulación.....	36
5.6. Caracterización Nutricional y Fisicoquímica del Producto Optimizado.....	39
5.6.1. Caracterización nutricional.....	39
5.6.2. Caracterización fisicoquímica.....	40
5.6.2.1. Determinación de actividad de Agua (Aw).....	40
5.6.2.2. Determinación de pH.....	40
5.7. Perfil Descriptivo del Pan Elaborado.....	40
5.8. Determinación de la Vida Útil.....	41
5.8.1. Determinación de la vida útil mediante.....	41
análisis sensorial de Karlsruhe	
5.8.2. Determinación de la dureza del Producto durante la vida útil.....	42
mediante análisis de textura.	
5.8.3. Correlación respuesta Dureza,.....	42
obtenida por vía sensorial y por vía instrumental	
CAPÍTULO VI: RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	43
6.1. Diseño Experimental.....	43
6.2. Caracterización de las Muestras Elaboradas.....	43
6.2.1. Forma de las muestras elaboradas.....	43
6.2.2. Altura y volumen de las muestras elaboradas.....	45

6.2.3. Análisis de perfil de textura (TPA)	47
6.3. Optimización de la Formulación.....	50
6.3.1. Análisis sensorial de consumidores.....	50
6.3.2. Análisis estadístico y optimización de la formulación.....	52
6.4. Caracterización Nutricional y Físicoquímica del Producto Optimizado...58	
6.4.1. Caracterización nutricional.....	58
6.4.2. Caracterización físicoquímica. Determinación de a_w y pH.....	59
6.5. Perfil Descriptivo.....	60
6.6. Determinación de la Vida Útil.....	62
6.6.1 Determinación de vida útil mediante análisis sensorial.....	62
de Karlsruhe	
6.6.2. Determinación de la dureza del producto durante.....	65
la vida útil, mediante análisis de textura.	
6.6.3. Correlación Evaluación de Dureza.....	66
vía sensorial e Instrumental	
CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES.....	68
CAPÍTULO VIII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
ANEXO 1.....	74
ANEXO 2.....	74
ANEXO 3.....	75
ANEXO 4.....	78
ANEXO 5.....	86

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
Figura 3.1. Imagen planta de Quínoa	6
Figura 3.2. A. Partes de Fruto. B. Granos de quínoa Secos	6
Figura 3.3. Superficie, en hectáreas, dedicadas a la siembra de quínoa en Chile, y producción, en quintales métricos, por regiones del país.	8
Figura 3.4. Sustrato de acción de la enzima Transglutaminasa	12
Figura 3.5. Lisina, aminoácido	13
Figura 3.6. Mecanismos de retrogradación del almidón, alineación de las cadenas de forma lenta y rápida	21
Figura 3.7. Ciclo del almidón en el pan	22
Figura 3.8. Curva generalizada de Perfil de Textura	24
Figura 3.9. Esquema de la curva esfuerzo de compresión v/s deformación para alimentos esponjosos	25
Figura 5.1. Diagrama de bloques del trabajo a realizar	30
Figura 5.2. Diagrama de bloques diseño	32
Figura 5.3. Diseño experimental del producto, en base a la cantidad y tiempo de acción de la enzima Tg.	38
Figura 6.1. Fotografías de las 10 muestras desarrolladas	44
Figura 6.2. Imagen ampliada de pan elaborado con enzima y pan elaborado sin enzima Tg	46
Figura 6.3. Diagrama de Pareto y Gráfica de superficie de respuesta para Aceptabilidad general	54
Figura 6.4. Superficie de respuesta de optimización múltiple y Gráfica de respuesta de contorno de optimización múltiple	56

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO	PÁGINA
Gráfico 6.1. Alturas y volúmenes de las muestras desarrolladas	45
Gráfico 6.2. Parámetros Dureza y Gomosidad, analizados en el perfil de textura	48
Gráfico 6.3. Parámetros Cohesividad y Elasticidad, analizados en el perfil	48
Gráfico 6.4. Curva de Perfil de Textura obtenida desde el Equipo de textura de Ensayos Universales Zwick / Roell, ZHV	49
Gráfico 6.5. Gráfico radial. Perfil descriptivo vía sensorial	61
Gráfico 6.6. Primer día de evaluación de calidad, vía sensorial	62
Gráfico 6.7. Segundo día de evaluación de calidad, vía sensorial	63
Gráfico 6.8. Tercer día de evaluación de calidad, vía sensorial	63
Gráfico 6.9. Calidad total	64
Gráfico 6.10. Evaluación Instrumental de la Dureza durante los 3 días de evaluación de vida útil	65

INDICE DE TABLAS

TABLA		PÁGINA
Tabla 3.1.	Composición nutricional harina de quínoa	10
Tabla 3.2.	Tiempo requerido para la inactivación de la enzima Transglutaminasa, por calentamiento de una salchicha	14
Tabla 4.1.	Equipos empleados	29
Tabla 5.1.	Puntajes asignados a los niveles de preferencia en análisis sensorial	37
Tabla 6.1.	Cantidad de enzima y tiempos de los diseños experimentales desarrollados según el modelo empleado, modelo factorial $3^2 + 1$ punto central.	43
Tabla 6.2.	Cuadro resumen valores obtenidos en el test TPA	47
Tabla 6.3.	Puntajes promedios obtenidos por las 10 muestras elaboradas	51
Tabla 6.4.	Tabla resumen de las concentraciones óptimas de enzima y tiempos de acción	53
Tabla 6.5.	Modelos de correlación entre las variables respuesta y las variables independientes.	55
Tabla 6.6.	Valor óptimo de conveniencia	57
Tabla 6.7.	Formulación óptima del pan de molde en base a quínoa	57
Tabla 6.8.	Composición nutricional en 100 g de pan de molde elaborado con harina de Quínoa y EnzimaTg, y pan elaborado con harina de Trigo Integral	58
Tabla 6.9.	Aporte nutricional de 25 g de producto respecto a la Guía Diaria de Alimentación de la CIIA.	59
Tabla 6.10.	Resultado de análisis fisicoquímicos del producto	59
Tabla 6.11.	Resumen de los resultados de diferencias significativas para el test descriptivo entre muestras y jueces para cada parámetro evaluado.	60
Tabla 6.12.	Correlación del valor de la Dureza obtenido por	66

vía sensorial e instrumental

RESUMEN

La quínoa es un pseudo cereal de alto valor nutritivo y escasamente utilizado en la industria alimentaria. Este trabajo busca emplear la quínoa en la elaboración de pan, alimento ampliamente consumido en Chile (80kg/año, por habitante), adicionando en su formulación enzima Transglutaminasa (Tg), con el fin de entrecruzar las proteínas de la harina de quínoa, y crear una red proteica que suple la ausencia de gluten. Se realizaron 9 muestras, de formulaciones diferentes, en las que se varió la cantidad de enzima Tg (0U, 1U y 10 U) y el tiempo de acción de la misma (15, 30 y 45 minutos), el diseño se realizó con repetición del punto central. Las muestras desarrolladas fueron caracterizadas físicamente mediante Análisis de perfil de textura, observándose diferencias significativas, para los parámetros dureza y gomosidad, entre las muestras que contenían enzima Tg y las que no. También se midió el volumen y la altura de las muestras luego del horneado, observándose nuevamente diferencias significativas entre la altura de las muestras que contenían enzima y las que no lo hacían. Estas últimas presentaron valores que no superaron los 1,4 cm mientras que las muestras que contenían enzima promediaron los 1,8 cm. Mediante el Método de Superficie de Respuesta se determinó la fórmula que presentó mayor aceptabilidad desde el punto de vista sensorial entre los consumidores, esta fue: 52,56% Agua; 43,8% harina de quínoa; 1,31% levadura; 0,88% sal; 0,88% azúcar; 0,58% enzima Transglutaminasa. Esta formulación fue desarrollada y caracterizada nutricionalmente, obteniéndose que por 100 g aporta 237 kcal, presenta 11,8g de proteínas, 45,8 g de carbohidratos, 0,7g de materia grasa, 3,1g de cenizas y 38,5g de humedad. Además presenta Aw 0,95 y pH 5,5, parámetros que indican una corta vida útil. Ésta fue determinada y comparada con la vida útil de otras dos muestras, una elaborada con harina de Quínoa sin adición de harina Tg, y otra elaborada bajo el mismo proceso pero con harina de trigo integral. Ésta se prolongó por tres días para los tres productos evaluados.

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir que es posible la elaboración de pan de harina de quínoa empleando enzima Transglutaminasa, y que ésta mejora sus características organolépticas y reológicas, frente al pan de harina de quínoa que no contiene enzima Tg.

SUMMARY

“EFFECT OF TRANSGLUTAMINASE ENZYME ADDITION ON DEVELOPMENT OF BREAD BASED QUINOA (*Chenopodium quinoa* Willd) FLOUR”

Quinoa is a high nutritional value pseudocereal, barely used in food industry. This work focuses to employ quinoa in the elaboration of bread, who is highly consumed in Chile (80kg/year, per habitant), adding in his formulation transglutaminase enzyme (tg), with the purpose of crosslink the proteins of the flour, creating a protein network, who can replace the gluten absence. Nine samples were developed, from different formulations, varying the enzyme quantity (0U, 1U y 10 U) and the time of expose to the enzyme activity (15, 30 y 45 min). The samples were physical characterized by Textural Profile Analyses and significant differences were observed between samples that contained Tg enzyme and the samples that did not, on hardness and gumminess parameters. The volume and the height of the samples developed were measured after baking, and significant differences were detected again. The samples without Tg enzyme did not exceed 1.4 cm of height while the samples with Tge enzyme averaged 1.8 cm of height. Through Response Surface Method, the formulation was optimized, and the preferred formula by the consumers was: 52.56% water, 43.8% quinoa flour, 1.31% yeast, 0.88% salt, 0.88% sugar, 0.58% enzyme transglutaminase. This formulation was developed and characterized nutritionally, obtaining that provides 237 kcal 100 g, has 11.8 g protein, 45.8 g carbohydrate, 0.7 g fat, 3.1 g ash and 38.5 g moisture. It also presents Aw 0.95 and pH 5.5, parameters that indicate a short life. The shelf life of the product was determined, and it was compared with two others samples; the first one was elaborated with quinoa flour without enzyme transglutaminase, and the second one was elaborated with wheat integral flour. The shelf life lasted for three days for the three products developed. According to results, it can be concluded that is possible to elaborate bread from quinoa flour employing transglutaminase enzyme, and that this enzyme improves the organoleptic and rheological properties of the bread, comparing quinoa flour bread containing no transglutaminase enzyme.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

La Quínoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) es un pseudocereal que ha sido cultivado en zonas andinas y sub tropicales desde hace más de 5000 años (Alfonso y Bazile, 2009). Chile, como país andino también posee superficies que cultivan este cereal, que debido a su gran capacidad de adaptación, es posible encontrarlo en zonas agroecológicamente diferenciadas, como son el desierto de altura del altiplano, el seco costero de las regiones centrales, o las zonas de pluviometría abundante del sur (Alfonso y Bazile, 2009).

La harina de quínoa es un producto que se obtiene de la molienda del grano de quínoa, cuya composición nutricional es muy completa. Presenta una alta cantidad de almidón, (66,1%), cantidad casi idéntica a la que presenta la harina de trigo, que contiene un 66% (Schmidt-Hebbel y col, 1992), su contenido de proteínas alcanza un 14,2%, (Abugoch y col, 2009) y posee ácidos grasos poliinsaturados que alcanzan el 63,5% del total de los lípidos presentes en el grano de quínoa, entre los que destaca el ácido linoléico (Castro, 2010).

Ambas características anteriormente mencionadas, hacen de la quínoa un alimento interesante de incluir y masificar en la dieta actual de los chilenos, es por ello que el pan de harina de quínoa se presenta como una buena opción, debido a que cada chileno consume en promedio por año 80 kg de pan (Chile potencia alimentaria, 2010). Sin embargo, la harina de quínoa no contiene gluten, por lo que su panificación no presentará los resultados organolépticos esperados en un pan tradicional. El desafío tecnológico de desarrollar un pan empleando únicamente harina de quínoa impulsa a buscar posibles soluciones, planteándose el empleo de enzima transglutaminasa (Tg) como posible solución. Ésta es una enzima acil transferasa, capaz de entrecruzar las proteínas presentes en la harina de quínoa (Arrizubieta, 2007) y de crear una red proteica que brinde soporte y volumen al producto final. La enzima Tg empleada en la industria de alimentos proviene del *Streptomyces Mobaraensis* (Arrizubieta, 2007), ésta

es ampliamente usada en la industria cárnica para reestructuración de carnes y elaboración de embutidos, por su elevada capacidad de ligación (Jozami y Sesehousky, 2003). Actualmente se está introduciendo en ciertos alimentos lácteos, para mejorar sus características organolépticas, y en algunos alimentos horneados, principalmente a base de trigo, para mejorar su textura (Lorenz y Coulter, 1991).

Debido a que la harina de quínoa no contiene gluten, y que no se adicionan productos que lo contengan al producto final, el mercado de este pan se abre hacia las personas que presentan enfermedad celíaca; que representan cerca de 180.000 habitantes, sólo en Chile (Coacel, 2011). Esta enfermedad corresponde a una enteropatía que afecta el intestino (delgado) en niños y adultos predispuestos genéticamente, precipitada por la ingestión de alimentos que contienen gluten (Bai y col, 2011).

El presente trabajo busca acercar este nutritivo, y subutilizado cultivo, a toda la población, mediante un alimento de elevado consumo en la sociedad chilena, como lo es el pan.

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Hipótesis

Al adicionar enzima transglutaminasa a la masa de harina de quínoa (*Chenopodium quinoa Willd.*), para la elaboración de pan, es posible replicar los efectos físicos y sensoriales que otorga el gluten al pan de trigo

2.2. Objetivo General

Elaborar pan a base de harina de quínoa con adición de enzima transglutaminasa, que tenga propiedades reológicas y sensoriales agradables para los consumidores.

2.3. Objetivos Específicos

- Evaluar el comportamiento de la enzima Transglutaminasa en alimentos horneados y ricos en proteína y libres de gluten, como la harina de quínoa.
- Optimizar la formulación del producto, por medio de la Metodología de Superficie de Respuesta
- Caracterizar el producto de acuerdo a sus propiedades fisicoquímicas, a sus atributos sensoriales, a su comportamiento reológico y a su composición nutricional.
- Comparar los atributos sensoriales y reológicos del producto desarrollado con los de un producto de idénticas características que no contenga la enzima Tg.
- Comparar los atributos nutricionales del producto elaborado, con un producto a base de harina de trigo integral, existente en el mercado chileno.
- Determinar la vida útil del producto desarrollado, mediante análisis sensorial y análisis instrumentales de dureza.

CAPÍTULO III: ANTECEDENTES GENERALES Y MARCO TEÓRICO

3.1. Antecedentes Generales

3.1.1. Antecedentes Generales de la Quínoa (*Chenopodium quinoa Willd.*)

La quínoa es un alimento vegetal y está considerada dentro del grupo de los pseudocereales, debido a que es una semilla dicotiledónea de almidón, que incluye a otras especies como el amaranto y el trigo sarraceno. Ha sido cultivada por siglos para consumir sus hojas, y como un cultivo de granos subsidiarios importantes, debido a que el grano de quínoa tiene gran cantidad de proteínas, con abundancia de aminoácidos esenciales y un amplio rango de vitaminas y minerales (Gandarillas, 1979).

La Quínoa es uno de los cultivos más antiguos de los viejos pueblos americanos. Su desarrollo posterior se equipara al del maíz y la papa, sin embargo, su cultivo no ha progresado debido a que la penetración española impulsó principalmente el trigo y la cebada entre los cereales. Más tarde fueron introducidas nuevas especies lo que relegó a la quínoa a un segundo plano (Alfonso y Bazile., 2009)

3.1.1.1. Descripción Botánica de la Quínoa

La germinación de la quínoa se inicia a las pocas horas de tener humedad, alargándose primero la radícula que al crecer da lugar a una raíz pivotante vigorosa que puede llegar hasta 30 cm de profundidad.

A partir de unos pocos centímetros del cuello, empieza a ramificarse en raíces secundarias, terciarias, etc., de las cuales salen las raicillas que también se ramifican en varias partes, siendo algunas excesivamente tenues y largas, como un cabello de más de 5 centímetros de longitud. (Anexo 1).

El tallo es cilíndrico a la altura del cuello y después anguloso debido a que las hojas son alternas a lo largo de cada una de las cuatro caras. A medida que la planta va creciendo, nacen primero las hojas y de las axilas de éstas, las ramas (Gandarillas, 1979). Las hojas pueden ser lisas o aserradas, las lisas se encuentran en Bolivia y las aserradas, en el centro norte de Perú y en Ecuador. La lámina varía entre las hojas superiores y las inferiores., las primeras pueden llegar a medir 10 cm de largo por 2 cm de ancho, y las inferiores pueden medir 15 cm de largo por 12 cm de ancho (Gandarillas, 1979).

La inflorescencia de la quínoa es racimosa, por lo que puede estar claramente diferenciada del resto de la planta o en otros casos no existir diferencia clara, debido a que el eje principal tiene ramificaciones que le dan una forma cónica peculiar. Hay formas de la inflorescencia amarantiforme y glomerulada, y es precisamente esta última la forma predominante (Anexo 2). La longitud del racimo o panoja es muy variable, se pueden agrupar en pequeñas (de 15 cm), medianas y grandes (de hasta 70 cm) (Gandarillas, 1979). Las flores son incompletas dado que carecen de pétalos. Pueden ser hermafroditas, pistiladas o macho estériles, observándose un porcentaje similar de hermafroditas y pistiladas.

La quínoa es un aquenio, es decir, un fruto de una sola semilla, cubierto por el perigonio, del que se desprende con facilidad al frotarlo cuando está seco. El color del fruto está dado por el del perigonio y se asocia directamente con el de la planta, como los que se observan en la figura 3.1., por lo que puede ser verde, púrpura o rojo. En la madurez el púrpura puede quedarse del mismo color o variar a amarillo, teniendo en este último caso la semilla amarilla.



Figura 3.1.: Imagen de planta de quínoa (Gandarillas, 1979).

El pericarpio del fruto que está pegado a la semilla, presenta alvéolos y en algunas variedades se pueden separar fácilmente. Para consumirla, algunas poblaciones de Los Andes separan el pericarpio tostando primero el grano y luego frotándolo con los pies contra un mortero de piedra. Pegada al pericarpio se encuentra la saponina, que le transfiere el sabor amargo.



Figura 3.2.: A. Partes del fruto de quínoa (Gandarillas, 1979). B. Granos de quínoa secos.

La gran variedad de colores que presenta la quínoa se debe a las distintas coloraciones del perigonio, pericarpio y episperma (Gandarillas, 1979). Entre los

diferentes colores de quínoa, se pueden mencionar granos blancos, amarillo claro, amarillo intenso, anaranjados, rosado claro, rojo, marrón, gris y guindo claro, estos colores se deben a la presencia de betacianinas. (Gandarillas, 1979).

El fruto puede tener los bordes afilados o redondeados, donde las quínoas cultivadas, con pocas excepciones, siempre tienen el borde afilado, en tanto las silvestres lo tienen redondeado (Gandarillas, 1979). Sobre el tamaño de los granos se pueden considerar tres: grande de 2,2 a 2,6 mm, mediano 1,8 a 2,1 mm y pequeño menor a 1,8 mm (Gandarillas, 1979).

3.1.1.2. Cultivo de la quínoa

El cultivo de la quínoa se da en un amplio rango de condiciones climáticas; en Sud América (especialmente alrededor de Los Andes) se puede encontrar entre el paralelo 20°N, en Colombia, y el paralelo 40°S, en Chile, y desde el nivel del mar hasta una altitud de 3800 m. Es el Desierto de Atacama el sector en el que no se cultiva quínoa, sin embargo, al sur de éste, en Chile, se continúa con el cultivo (Alfonso y col., 2009).

La quínoa ha sido cultivada en las zonas andinas y subtropicales desde hace más de 5.000 años. En la actualidad, mientras que en Bolivia y Perú existen importantes superficies destinadas a la quínoa (Bolivia alcanza el máximo con 47.534 ha), en Chile la superficie total es de 1.474 ha (Alfonso y col., 2009). La progresiva desaparición de los cultivos de quínoa en Chile comenzó con la conquista hispánica que introdujo otros cultivos como el trigo o la cebada y se vio acentuada por los cambios en el uso de los suelos hacia una vocación forestal en el último siglo (Alfonso y Bazile., 2009).

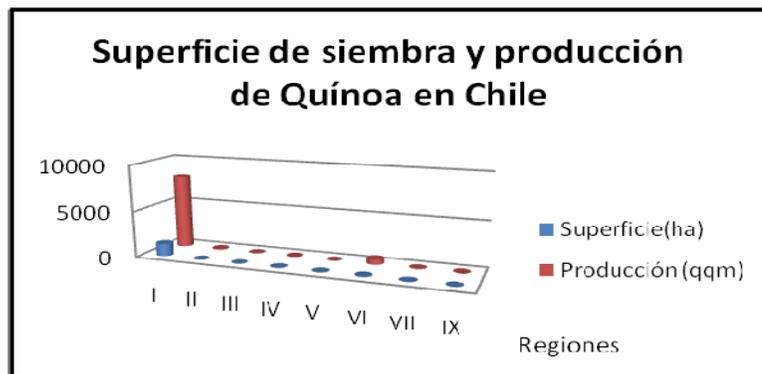


Figura 3.3. Superficie, en hectáreas, y producción en quintales métricos, por regiones del país dedicada a la siembra de quínoa en Chile. (Alfonso y Bazile, 2009).

3.1.1.3. Composición Nutricional

La planta de quínoa contiene nutrientes tanto en sus hojas como en el grano mismo. En sus hojas posee 3,3% de cenizas, 1,9% de fibra, 0,4 % de nitratos y vitaminas C y E, además de carotenoides (82 – 190 mg/kg). Sin embargo, es el grano el que posee la mayor y mejor cantidad de nutrientes (Bhargava y col, 2005)

El almidón es almacenado en el perisperma de la semilla y las proteínas y lípidos en el embrión y endosperma. El contenido de almidón varía entre un 51 y un 61% y consiste en pequeños gránulos uniformes de menos de 3 μm de diámetro. El almidón de quínoa gelatiniza sobre los 56 – 58°C, y muestra una sola etapa de hinchazón en el rango de temperatura de 65 a 95°C. Los granos contienen un promedio de alrededor de 4,1% de fibra, con un rango entre 1,1 y 16,32%, contenido que es mucho más alto que el del arroz (0,4%), trigo (2,7%) y maíz (1,7%) (Bhargava y col, 2005).

El contenido de cenizas de quínoa es de un 3,4% superando al arroz (0,5%) y al trigo (1,8%) y a otros cereales tradicionales. Los granos de quínoa poseen grandes cantidades de calcio, hierro, zinc cobre y manganeso. La cantidad de potasio

encontrada en granos de quínoa es el doble a la encontrada en la mayoría de los cereales y legumbres (Ranhotra y col, 1993). Los valores de algunos minerales encontrados en la quínoa, como el magnesio y el zinc, varían su cantidad en el grano de acuerdo a la composición del suelo en que se desarrollan (Ranhotra y col, 1993).

Varios estudios revelan que el contenido de aceite en la quínoa es de un promedio entre 5 y 7,2%, superando al maíz (3 – 4%). El aceite de quínoa es rico en ácidos grasos esenciales como el linoléico y linolénico, y tiene una alta concentración de antioxidantes naturales como el α - tocoferol y el γ - tocoferol. Las altas concentraciones y buena calidad del aceite de quínoa hacen considerar a la quínoa como un potencial nuevo y valioso cultivo de aceite (Bhargava y col, 2005).

El contenido de proteínas varía entre un 7,47 a un 22,08%. Las albúminas y globulinas componen el mayor porcentaje de proteínas de la quínoa (44 – 77% del total de proteína), mientras que posee un bajo porcentaje de prolaminas (0,5 – 0,7%). Las semillas de quínoa presentan un balanceado espectro de aminoácidos con altos niveles de lisina, histidina, glicina, y metionina. Comparada con el común de los cereales, la quínoa tiene contenidos más altos de proteínas, lisina, grasa y fibra; teniendo una excelente calidad de proteína. Las cantidades químicas de metionina + cistina, isoleucina, histidina, lisina, treonina, leucina, fenilalanina + tirosina y valina fueron mayores o casi equivalentes al patrón de exigencia para adultos de la FAO / OMS (Bhargava y col, 2005).

Las saponinas son los principales factores anti nutricionales presentes en la superficie de la semilla de quínoa. Estos compuestos son básicamente triterpenos glicosídicos con glucosa, que constituyen alrededor del 80% del peso.

La cantidad de saponinas varía desde 0,2 a 0,4 g / kg de materia seca en semillas de genotipo dulce, y 4,7 a 11,3 g / kg de materia seca en semillas de genotipo amargo. La cantidad de saponinas se ve afectada por la deficiencia de agua en el suelo, una alta cantidad de agua puede ayudar a disminuir el contenido de saponinas en la semilla de quínoa (Bhargava y col, 2005).

3.1.1.4. Harina de quínoa

La harina de quínoa se obtiene al lavar las semillas de quínoa, para eliminar las saponinas, secarlas y luego molerlas finamente, el producto que se obtiene presenta la siguiente composición:

Tabla 3.1.: Composición nutricional harina de quínoa (Abugoch y col, 2009)

Parámetro	g / 100 g
Humedad	11,8
Carbohidratos	66,1
Cenizas	1,5
Proteínas	14,2
Grasa	6,4

3.1.1.5. Aplicaciones tecnológicas de la quínoa.

La quínoa es altamente nutritiva y ha sido usada para elaborar harina, sopas, como cereal para el desayuno y también alcohol (Bhargava y col, 2005).

En Perú y Bolivia, se elaboran hojuelas de quínoa, tortillas, y cereales inflados, siendo una elaboración industrializada y bastante desarrollada.

La harina de quínoa en combinación con harina de trigo o de maíz puede ser empleada para la elaboración de pasteles, pan y alimentos procesados, estos últimos debido a que la harina de quínoa tiene buenas propiedades de gelatinización, buena capacidad de absorción de agua y forma emulsiones muy estables (Bhargava y col, 2006). En el caso de la elaboración de pan y pasteles las formulaciones resultaron en la medida que el reemplazo de harina de trigo por harina de quínoa no fuera superior al 10%, para ambas elaboraciones, en caso contrario en la elaboración de pan se obtuvo una disminución del volumen, una miga de grano más abierto y una textura ligeramente dura. En el caso de los pasteles se observa un sabor mejorado a bajas concentraciones de harina de quínoa, pero al aumentar la proporción 10/90 (harina de

quínoa / harina de trigo) se puede obtener un sabor ligeramente más amargo (Lorenz y Coulter 1991). La quínoa puede fermentarse para obtener cerveza, así como también puede emplearse la planta completa como forraje para alimentar ganado, cerdos y aves de corral (Bhargava y col, 2006).

Otro uso que es importante destacar el de tipo medicinal, que ha sido poco reportado, sin embargo, esta planta se ha empleado en casos de inflamación como analgésico y como desinfectante de las vías urinarias. Estos informes pueden abrir nuevas vías para su uso como cultivo medicinal (Bhargava y col, 2006)

3.1.2 Antecedentes Generales Enzima Transglutaminasa.

La enzima Transglutaminasa (Tg), es una cadena polipeptídica de 331 aminoácidos con un PM de 38.000 daltons. Esta enzima cataliza la modificación postraducciona de proteínas, principalmente mediante el entrecruzamiento proteína – proteína, pero también a través de la conjugación covalente de poliaminas, esterificación de lípidos, o la desamidación de residuos de glutamina (Arrizubieta, 2007). Como toda enzima, actúa bajo ciertas condiciones de temperatura, tiempo y pH.

La enzima transglutaminasa está ampliamente distribuida en la naturaleza, se puede encontrar en plantas, mamíferos y microorganismos.

En plantas se puede encontrar en varios compartimentos, como cloroplastos, mitocondrias, pared celular y citoplasma. Sus funciones se relacionan con el crecimiento de las plantas, la división celular, la diferenciación, la muerte celular programada y la fertilización (Arrizubieta, 2007).

La Transglutaminasa de mamíferos es estrictamente dependiente del calcio para su actividad y está relacionada con distintos procesos fisiológicos y enfermedades y, en consecuencia han aumentado los intereses médicos y farmacológicos en su potencial (Arrizubieta, 2007).

La enzima Transglutaminasa de microorganismos no requiere calcio para su actividad, ni tampoco de cofactor o coenzima, y se obtiene gracias a un método de fermentación, en el que se emplea almidón y otras materias primas (Arrizubieta, 2007). Ajinomoto® (proveedor de la enzima) cultiva la producción de TG a partir del microorganismo *Streptovercullium mobaerense*, y luego purifica el producto desde el medio de cultivo. Los microorganismos son completamente removidos después de la fermentación (Ajinomoto food ingredients, 2011). Esta última es el tipo de enzima empleada en la industria alimentaria.

3.1.2.1. Condiciones para la reacción de entrecruzamiento.

La enzima Transglutaminasa cataliza la reacción de acil transferencia entre el grupo carboxilamida del enlace peptídico del residuo de glutamina y una amina primaria.

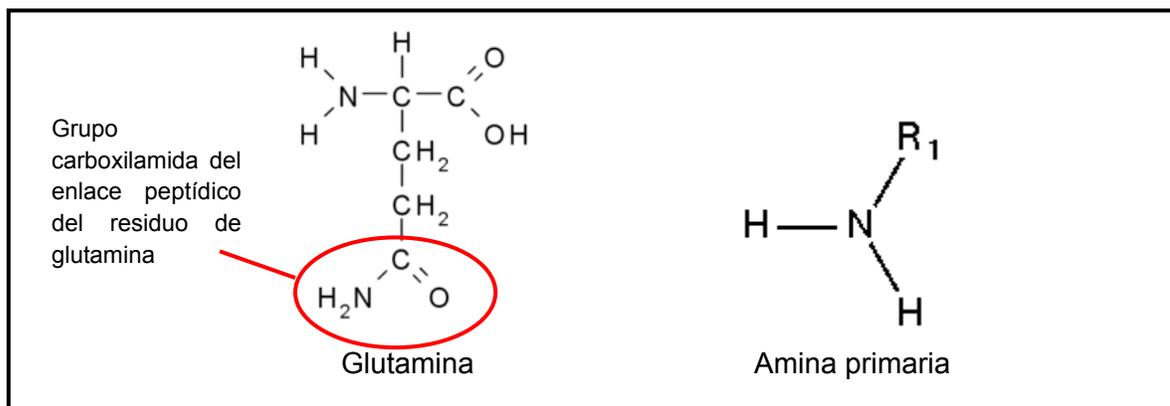


Figura 3.4.: Sustrato de acción de la enzima Transglutaminasa (Arrizubieta, 2007).

En muchos casos descritos, la amina primaria es el grupo ϵ -amino del residuo de lisina, y el resultado de la reacción es la formación de vínculos de ϵ -(γ -glutamyl) lisina. En esta reacción la cadena de glutamina sirve como dador acilo, por lo que la amina primaria funciona como aceptor.

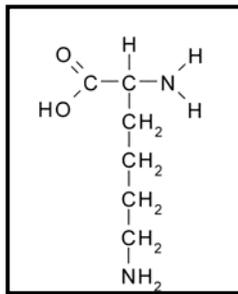
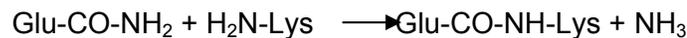


Figura 3.5.: Lisina, aminoácido cuya amina primaria funciona como aceptor (López y col, 2004)

El resultado es la generación de un enlace covalente entre dos substratos y la liberación de Amonio. Los enlaces covalentes son mucho más estables que otros tipos de enlaces (electrostáticos, iónicos, enlaces puente de hidrógeno) y no son rotos por calentamientos normales de proceso ni fuerza física.



Dependiendo de la naturaleza del sustrato (proteínas o péptidos), la reacción puede resultar en un entrecruzamiento de proteínas o en una conjugación de péptidos de proteínas. Cuando la amina primaria no está disponible, el agua puede funcionar como grupo acilo aceptor, con la consecuente desamidación del residuo de glutamina. La reacción de la transglutaminasa es reversible y procede vía una modificación de mecanismo de doble desplazamiento.

En la masa elaborada con harina de quínoa la enzima transglutaminasa (Tg) actúa en la red de proteínas y forma enlaces covalentes entre estas. La red estructural de masa es fortalecida, y la firmeza y elasticidad de la masa son mejoradas.

La reacción es controlada por la relación entre Tiempo y Temperatura.

La progresión de la reacción de la enzima es determinada por la temperatura y tiempo de reacción total. Una alta temperatura de reacción requiere de menos tiempo de reacción, mientras que una baja temperatura requiere un tiempo de reacción mayor. El

tipo de alimento y las propiedades físicas deseadas determinan la relación de tiempo – temperatura en la reacción.

La enzima transglutaminasa cataliza la reacción en un amplio rango de pH, y es debido a esta flexibilidad, que aplicaciones efectivas pueden ser logradas en varios procesos alimenticios, abarcando variados tipos de alimentos. La inactivación de la Enzima TG se logra cuando la temperatura interna es de 75°C o más, en alimentos normales. De todos modos, el tiempo y la temperatura necesarios para la inactivación dependerán del tipo de alimento

Tabla 3.2.: Tiempo requerido para la inactivación de la enzima Tg, por calentamiento de una salchicha (3cm diámetro). Cada salchicha fue rápidamente enfriada en agua con hielo después de llegar a la temperatura designada (Ajinomoto Food Ingredients, 2011).

Temperatura Interna	Tiempo requerido para inactivación
65°C	2 horas o mas
70°C	15 minutos
75°C	5 minutos
80°C	1 minuto

3.1.2.2. Aplicaciones de la enzima Tg en la Industria alimentaria

La enzima Transglutaminasa tiene aplicación potencial en cualquier alimento que contenga proteínas, especialmente las que presentan numerosas terminaciones lisina o glutamina (como la soya o el trigo), son excelentes sustratos para la enzima Tg (Jozami y Sesehousky, 2003).

El modo de aplicación más conocido es el de reestructuración de carnes rojas, pollos, mariscos; pudiendo transformar materias primas de la carne, o pequeños trozos, en un producto con valor agregado, sin necesidad de utilizar cantidades excesivas de sal o fosfatos. Esto es porque la enzima Tg otorga capacidad de unión, ya que el enlace covalente catalizado por la enzima Tg es difícil de romper bajo una

acción no enzimática. Una vez que se ha formado la carne reconstituida no se dispersa ni siquiera con la congelación o cocimiento (Jozami y Sesehousky, 2003).

Un ejemplo claro es el caso de los embutidos, la adición de enzima Transglutaminasa (Tg) mejora la emulsión y las características reológicas del producto, otorgando firmeza y mejorando la textura, (Jozami y Sesehousky, 2003), propiedades que se verifican al morderlo. Esta enzima también puede ser empleada en reestructuración de filetitos y escalopas de pescado, y en elaboración de surimi; este último debido a que aumenta la fuerza de gel de los productos elaborados por el proceso tradicional. (Ajinomoto food ingredients, 2011)

La enzima Tg es empleada también en la industria láctea; al adicionarla al yogur mejora la cremosidad y viscosidad del producto (Ajinomoto food ingredients, 2011); garantiza una mayor estabilidad reológica durante el almacenaje, y además reduce la sinéresis, es decir, reduce la separación del suero en el yogur, ya que mejora la capacidad de retención de agua del gel. Esto último debido a la red fina de proteínas que se muestra en el yogur elaborado con enzima Tg, y que no presenta el yogur elaborado de la misma forma, pero sin la adición de la enzima, observación realizada en microscopía láser (Færgemand y Qvist, 1997).

En el caso del queso la enzima Tg tiene el potencial para aumentar el rendimiento de la cuajada en el proceso de fabricación del queso, ya que captura más proteínas del suero durante la elaboración del mismo (Ajinomoto food ingredients, 2011). Por otra parte, cuando más cantidades de suero de leche se añaden a la leche durante el proceso de fabricación de queso, en presencia de enzima Tg, se obtienen productos mayormente enriquecidos con proteínas del suero de leche (Cozzolino y col, 2010).

La enzima Transglutaminasa actúa como adhesivo y texturizante, por lo que su inclusión en la industria de cereales es un gran aporte. El impacto de la adición de enzima Tg, en panes de harina de trigo blanco y de trigo integral, ha sido evaluado, con el fin de conocer sus diferencias con preparaciones que no contienen la enzima. Las pruebas que se realizaron fueron pruebas fisicoquímicas, físicas (mediante análisis de

textura), sensoriales y análisis de imágenes digitales. Se encontró, en ambos tipos de muestras que contenían enzima Tg, un mayor volumen, un menor poder de acidificación, mejores propiedades mecánicas, aumentando la cohesividad y disminuyendo la dureza, y se obtuvieron altos puntajes en evaluación sensorial, especialmente al medir atributos visuales y texturales (Collar y Bollaín 2004).

También se ha incorporado la enzima Tg, a masas de afrechillo de trigo, para la elaboración de pastas, obteniéndose un producto de masa muy firme, inextensible a más del 1%, y muy poco pegajosa; estos efectos óptimos se obtuvieron al adicionar 0,5% de enzima Tg a la masa. Al observar la masa en el microscopio electrónico se puede apreciar una red muy fina de proteínas, que indica los entrecruzamientos que fueron realizados (Sissons y col, 2010).

La enzima Tg se ha empleado de forma experimental para desarrollar pastas con harina de amaranto y quínoa, cereales que por su bajo contenido de prolaminas no serían capaces de dar soporte a este tipo de alimentos; la cantidad de enzima requerida para obtener una pasta de calidad luego de cocinarla varía entre 200 mg/kg y 50 mg/kg (Kóvacs, 2004).

3.1.2.3. Enzima Transglutaminasa y enfermedad celíaca

La enzima Transglutaminasa tisular es una enzima perteneciente a la familia de las Transglutaminasas, que se encuentra en el intestino delgado de los seres humanos; esta enzima tiene estrecha relación con la enfermedad celíaca, debido a que cuando esta enfermedad se presenta la actividad de la enzima Transglutaminasa tisular en las células del intestino aumenta, dicha enzima desamida los péptidos de gliadina, proteína intolerable para enfermos celíacos, reacción que desencadena la cascada inflamatoria que libera metaloproteasas y otros mediadores que dañan los tejidos e inducen la hiperplasia de las criptas y la lesión de las vellosidades intestinales.

La enzima Transglutaminasa que se emplea actualmente en la industria alimentaria, y particularmente en el trabajo que se presenta a continuación, es una forma microbiana derivada de la familia de Transglutaminasas que, a diferencia de la enzima Transglutaminasa tisular, no presenta casos en los que se señale una conexión directa entre la aparición de la enfermedad celíaca y la ingestión de la enzima. Ambas enzimas tienen la función de catalizar una reacción de entrecruzamiento, pero difieren en varios puntos importantes, ya que la enzima Tg microbiana no es calcio dependiente, tiene estructura y orden diferente a la enzima Transglutaminasa tisular. Estas enzimas son conocidas como isoenzimas, es decir, son distintas formas moleculares de una misma enzima que presentan o muestran especificidad por el mismo sustrato. Lo anterior permite afirmar que los pacientes con enfermedad celíaca deben evitar ingerir alimentos que contengan gluten, sin importar si contienen o no enzima Transglutaminasa; y cuando ésta se utiliza en productos alimenticios que no contienen gluten, estos alimentos se consideran aceptables, ya que no se producirán péptidos de gliadina. Los informes entregados por Rossi (Rossi, 2010) indican que la enzima Tg microbiana, desamida péptidos de gliadina, el desencadenante de la enfermedad celíaca, en un nivel muy bajo, por lo que no se ha reportado ocurrencia de casos de enfermedad celíaca por ingestión de enzima Transglutaminasa.

3.1.3. Elaboración de Pan

El pan es un alimento tradicional que forma parte de la dieta de personas de gran parte del mundo como Europa, Oriente medio y América. En su formulación tradicional contiene los siguientes ingredientes: harina, agua, levadura, azúcar y sal. Los dos primeros son indispensables para elaborar la masa (Finney. 1984).

1. Agua: Es imprescindible para la elaboración de la masa, la cantidad a adicionar dependerá de la cantidad de proteínas presente en la harina a emplear y la textura de la masa debe ser levemente pegajosa. Al inicio del mezclado, la masa ofrece cierta resistencia a la extensión, primero porque la harina está hidratada solo en la superficie de las partículas que la conforman, y luego al humedecer el resto de la harina, el agua le da a la masa mayor fluidez. Según procede el proceso de mezclado, la harina se

hidrata más y más. Al hidratarse la proteína de la harina esta forma fibrillas; en la medida que la cantidad de agua libre disminuye, la cantidad de fibrillas aumentan y la resistencia a la extensión aumenta gradualmente. Esto continúa hasta que todas las proteínas de la harina son hidratadas (Hoseney, 1992).

2. Harina: Es el polvo obtenido al moler el grano de cereal. Aunque existen distintos tipos de harinas, que se utilizan para elaborar alimentos horneados, (por ej. harina de centeno), la harina de trigo es la más común, debido a que es la única que puede formar una masa viscoelástica que tenga la capacidad de retener gas y de producir una hogaza de pan liviana (Hoseney, 1992).

Aunque todas las harinas se componen principalmente de almidón y proteína, la harina de trigo se distingue en que tiene niveles muy altos de proteínas conocidas colectivamente como: gluten (contiene entre un 8 y un 14%). Las proteínas del gluten son una mezcla de varias proteínas que contienen una mezcla igual de dos grupos básicos: las prolaminas, llamadas gliadinas, y las glutelinas, llamadas gluteninas. La mezcla de estos grupos de proteínas confieren al gluten las propiedades viscoelásticas (Hoseney, 1992). Al aislar las gliadinas, éstas son físicamente pegajosas y muy extensibles, y las gluteninas son resistentes pero no muy extensibles. En ambos grupos el aminoácido predominante es la glutamina, formando alrededor del 35% del total de la proteína del gluten. Como se encuentra en su forma amida, no contribuye carga a la proteína, pero es responsable de la alta tendencia a la formación de enlaces puente de hidrógeno. El segundo aminoácido que compone en mayor cantidad el gluten es la prolina, con un 14% (Hoseney, 1992).

Cuando se mezcla harina de trigo y agua se forma una gruesa masa cohesiva y elástica. Cuando se coloca en el horno, el volumen aumenta respecto del volumen original y adquiere una textura ligera y aireada. Esta característica del gluten proporciona la estructura a productos de panadería, pasteles y pan. En la red proteica que forma el gluten los gránulos de almidón están incrustados como un sistema de ladrillos (Hoseney, 1992).

3. Levadura: Las características potenciales de una levadura panadera están determinadas por su raza. Hay seiscientas diferentes especies de levadura que han

sido identificadas en la naturaleza, pero sólo las levaduras de la especie *Saccharomyces cerevisiae* son usadas en panificación.

Las condiciones necesarias para el crecimiento de la levadura son estar en presencia de: calor (a una temperatura óptima entre 25 – 30°C), humedad y nutrientes (almidón más una pequeña cantidad de azúcar). El refrigerar la levadura ralentiza su crecimiento de modo que ésta se puede mantener por un período limitado de tiempo. Tan pronto como es añadida a la masa, la levadura comienza a alimentarse de la fécula en la mezcla, e inicia la formación de azúcar, alcohol y dióxido de carbono. Las burbujas de CO₂ causan que la masa se expanda; lo que permite obtener un volumen casi al doble del original. Si la mezcla se deja demasiado tiempo, el ácido producido por la oxidación del alcohol hace que el producto tome un sabor amargo (Hoseney, 1992).

4. Azúcar: La adición de este ingrediente es necesaria para la activación de la levadura, ya que la emplea como un sustrato para producir dióxido de carbono y etanol, sin embargo, un alto nivel de azúcar inhibe la fermentación de la levadura; y un nivel bajo de azúcar, entre 0 a 3%, el promedio de producción de gas se incrementa. A niveles mayores el promedio de producción decrece en 1% por cada 1% de incremento en la concentración de azúcar.

Es importante adicionar glucosa, fructosa o sacarosa (azúcar de remolacha) ya que son fermentadas rápidamente por la levadura panadera.

5. Sal: La adición de sal a la masa mejora el sabor del pan, y también actúa como reguladora del proceso de levado, frenando ligeramente la actividad fermentativa. La adición de un 2% de sal en la harina resulta en un 25% de decremento en la producción de gas en la masa final, por lo que hay que evitar que entre en contacto directo con la levadura ya que puede anular su función de fermentación.

La formación de la masa se inicia al mezclar la harina con el agua, mezcla que comienza a hacerse cada vez más resistente a la agitación y que luego se convierte en una masa gruesa y pegajosa. Durante el mezclado de la masa ocurre otro proceso importante, el de incorporación de aire en la masa, este proceso es muy importante

porque forma los núcleos que determinarán el número de celdas en la hogaza final de pan.

La levadura emplea el oxígeno presente en el aire y crea una masa anaeróbica, produciendo dióxido de carbono y alcohol etílico, mediante una reacción exotérmica. El CO₂ producido por la levadura satura la fase acuosa, por lo que debe buscar hacia dónde difundir y su única opción es hacerlo hacia las celdas de gas preformadas durante la mezcla, ya que el CO₂ no puede crear nuevas celdas para retener gases en la masa. Una vez que el CO₂ entra en la celda, la presión dentro de la misma aumenta, y como la masa tiende a mantener una presión de equilibrio, ésta aumenta su tamaño, o en otras palabras se expande, por lo que el pan aumenta su tamaño. Otra opción de difusión del CO₂ sería hacia la atmósfera, sin embargo, solamente el CO₂ que es producido cerca de la superficie puede difundir hacia fuera de la masa, esto se debe a que el resto del CO₂, que está hacia el interior de la masa, demora mucho en llegar a la superficie.

Al calentar la masa muchos cambios suceden en ésta, siendo el más importante el cambio en la reología de la masa. Al calentarla alrededor de 90°C se obtiene una pequeña disminución del módulo elástico. Al calentar la masa sobre los 90°C, particularmente a un tiempo prolongado de calentamiento, el gluten comienza a polimerizarse (entrecruzándose) y el módulo elástico aumenta ampliamente, esto sucede alrededor de la temperatura de gelatinización del almidón, a 65°C. Lo anterior puede explicarse debido a la transferencia de agua desde el gluten al almidón, situación que altera el módulo elástico; al calentar el sistema gluten – almidón el módulo elástico decrece sustancialmente, probablemente debido a la disminución de enlaces de hidrógeno entre las proteínas del gluten y el almidón.

Hoseney sugiere que la interacción entre las proteínas y el almidón cambian la reología de la masa, haciendo que no se pueda expandir eternamente debido a la presión que realiza el gas; como resultado las paredes de las celdas fallan, y la masa

se transforma en un sistema cuya fase continua es la gaseosa, lo que explicaría porque una rebanada de pan no colapsa cuando es removida del horno.

3.1.4. Deterioro del pan

El pan sufre deterioro por diversos factores entre los que se cuentan la retrogradación del almidón y la migración y redistribución de la humedad, entre los más importantes. La retrogradación del almidón se lleva a cabo luego de la gelatinización del almidón (proceso en que los gránulos de almidón pierden su semi cristalinidad y se hinchan, debido a su calentamiento en medio acuoso), la retrogradación es un proceso de transformación que ocurre cuando el almidón gelatinizado es almacenado a temperatura ambiente o en frío. Las moléculas de almidón gelatinizadas se aglomeran progresivamente mediante enlaces de hidrógeno, incrementándose la cristalinidad dentro del gel, resultando una estructura ordenada (Konishi y col, 2006). Este proceso puede ser llevado a cabo de forma rápida (proceso reversible) o lenta.

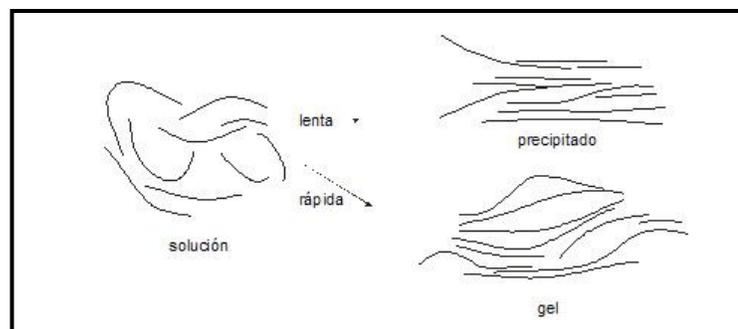


Figura 3.6.: Mecanismos de retrogradación del almidón, alineación de las cadenas de forma lenta y rápida (Hoseney, 1992).

En el pan fresco, el polímero ramificado tiene todas sus ramas completamente extendidas, mientras que en el pan duro, están retrogradadas, unidas entre si y sin el agua original, como se observa en la figura 3.6.

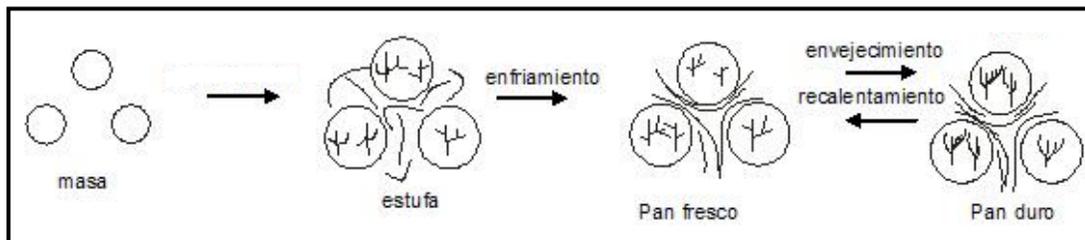


Figura 3.7.: Ciclo del almidón en el pan, desde que se cocina la masa, luego la obtención del pan fresco y finalmente la obtención de pan duro producto del envejecimiento del pan (Hoseney, 1992).

La retención de agua es otro punto muy importante del deterioro del pan, debido a la estrecha relación que tiene con la dureza del pan. La dureza del pan es causada principalmente por el entrecruzamiento entre el almidón parcialmente solubilizado y las proteínas del gluten. En el pan el agua actúa como plastificante, por lo que cuando la humedad disminuye, se acelera la formación de entrecruzamientos entre el almidón y las proteínas y, por ende, el pan se pone duro más rápidamente. (Hoseney 1990)

3.2. Marco Teórico

3.2.1. Metodología de Superficie de Respuesta (MSR)

La Metodología de Superficies de Respuesta (RSM) es un conjunto de técnicas matemáticas utilizadas en el tratamiento de problemas en los que una respuesta de interés está influida por varios factores de carácter cuantitativo. El propósito inicial de estas técnicas es diseñar un experimento que proporcione valores razonables de la variable respuesta y, a continuación, determinar el modelo matemático que mejor se ajusta a los datos obtenidos. El objetivo final es establecer los valores de los factores que optimizan el valor de la variable respuesta (Fernández y Piñeiro, 2001).

La forma de la función f que determina la relación entre los factores y la variable respuesta es, en general, desconocida, por lo que el primer objetivo de la RSM

consiste en establecer experimentalmente una aproximación apropiada de la función f (Fernández y Piñeiro, 2001).

Cuando no se tiene suficiente información acerca de la forma que presenta la superficie de respuesta, se hace el primer intento de ajuste, generalmente, aproximando a través de un modelo de primer orden. Cuando existe curvatura en la superficie de respuesta, el modelo de primer orden no es una aproximación adecuada y es necesario utilizar un modelo que ajuste mejor. Se emplea entonces un modelo de segundo orden.

La elección de un diseño adecuado del experimento a realizar es fundamental para modelar y explorar la superficie de respuesta usada para ajustar un modelo polinómico al conjunto de datos recogidos en los puntos del diseño (Fernández y Piñeiro, 2001).

3.2.2 Análisis de Perfil de Textura (TPA)

Este parámetro, la textura, tiene una importancia fundamental en la producción y aceptación de cualquier alimento por el consumidor. Es la textura de los alimentos la que lleva al consumidor a aceptar el producto y las sensaciones finales al masticarlo lo llevan a ingerirlo, lo que indica que el alimento ha respondido a lo que el consumidor esperaba de él (Castro, 2009). Obtener una descripción cuantitativa de la textura usando datos instrumentales es algo muy complejo, porque ningún instrumento es capaz de replicar las capacidades humanas. Sin embargo, existen estas dos vías para evaluar la textura de un alimento: la sensorial y la instrumental. Esta última es menos costosa y consume menos tiempo que la vía sensorial. (Steffe. 1996)

El Análisis de perfil de Textura consiste en un test de doble compresión, siendo el método instrumental más reconocido para caracterizar la textura de un sólido o de un semisólido. Para llevar a cabo el análisis se emplea un equipo Universal de ensayos de materiales, que comprime la muestra de alimento dos veces, usualmente al 80% de su altura original. En dicha compresión se utilizan platos paralelos en los que uno se

mantiene fijo y el otro se mueve con movimiento lineal recíprocante cíclico, donde la primera y segunda compresión actúan como la primera y segunda mordida que un ser humano efectuaría en el alimento, respectivamente.

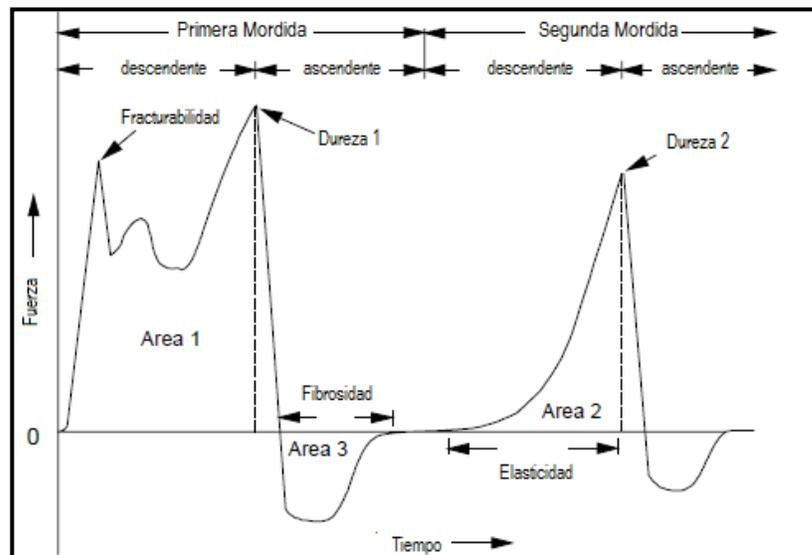


Figura 3.8. Curva generalizada de Perfil de Textura obtenida desde el Equipo de Ensayos Universales (Steffe, 1996)

De la curva obtenida pueden obtenerse varios parámetros texturales, que en el caso de alimentos sólidos de características similares al pan son:

- Dureza (hardness) es definida como la fuerza pico logrado durante el primer ciclo de compresión, los términos asociados para describir este parámetro son: suave, firme o duro.
- Cohesividad (cohesiveness) es definido como la razón del área positiva lograda durante la segunda compresión y del área positiva de la primera compresión (A_2 / A_1).
- Elasticidad (springiness antes llamado elasticity) es definida como la altura que recupera el alimento durante el tiempo que transcurre entre la primera y la segunda compresión, se describe con los términos plástico o elástico.
- Gomosidad (Gumminess) es definida como el producto de dureza por cohesividad.

La adhesividad o pegajosidad, que es definida como el área negativa lograda durante la primera compresión y representa el trabajo necesario para sacar el pistón de la muestra, no aplica para este tipo de ensayos, y puede obtenerse con otro tipo de alimentos (Steffe. 1996).

En el caso de alimentos esponjosos, como el pan, la curva para la primera compresión posee tres zonas:

Zona I representa deformación de la matriz original, llamada “zona del hombro”

Zona II colapso de las paredes celulares

Zona III densificación (Castro, 2009)

Estas se pueden observar en la figura 3.8.

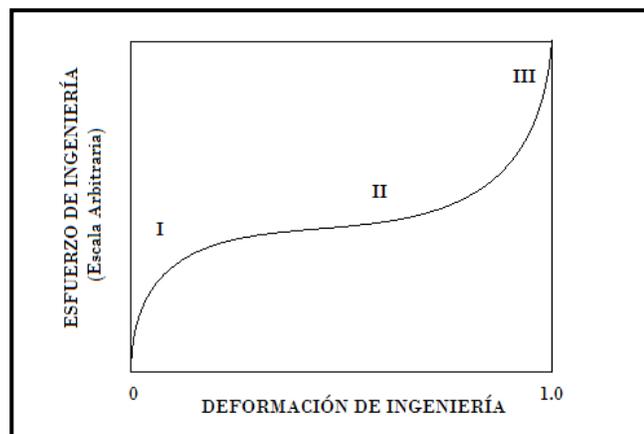


Figura 3.9.: Esquema de la curva esfuerzo de compresión v/s deformación para alimentos esponjosos (Castro, 1999)

La curva presenta tres zonas: la primera deformación elástica o casi elástica debido a la flexión de las paredes celulares, seguida por colapso y aplastamiento de las paredes celulares, fluencia o rotura y compactación al aplastarse las paredes celulares.

Una esponja de baja densidad tiene todas sus celdas abiertas presentando una resistencia baja hasta que una parte considerable del material de sus paredes celulares empieza a actuar (Castro, 1999).

3.2.3. Perfil sensorial descriptivo

Las pruebas descriptivas constituyen una de las metodologías más importantes del análisis sensorial. La finalidad del test descriptivo es caracterizar el producto en base a un mínimo número de descriptores que contengan un máximo de información sobre las características sensoriales del producto (Wittig, 2001).

El análisis se basa en la descripción y detección de aspectos sensoriales cualitativos y cuantitativos del producto, por un grupo de jueces entrenados previamente (Wittig, 2001).

3.2.4. Vida útil

La vida útil de un alimento, es el periodo en el cual se produce una tolerable disminución de la calidad del producto. En el momento en que alguno de los parámetros que engloba la calidad alcanza valores fuera de lo permitido, se considera al alimento inapropiado para el consumo y ha llegado al fin de su vida útil (Man y Jones, 1994).

Para determinar la vida útil de un alimento se deben identificar las reacciones químicas o biológicas que influyen en la calidad y seguridad de éste, para lo que se debe considerar la composición del alimento y los procesos a los que ha sido sometido. Luego se procede a establecer las reacciones más críticas que afectan la calidad (Casp y April, 1999).

Para predecir la vida útil de un producto es necesario en primer lugar identificar y seleccionar la variable cuyo cambio es el que primero identifica el consumidor como una baja en la calidad del producto (Brody, 2003), por ejemplo, en algunos casos esta variable puede ser la rancidez, cambios en el color, sabor o textura, pérdida de vitamina C o inclusive la aparición de poblaciones inaceptables de microorganismos.

Para determinar la vida útil se realizan mediciones en tiempo real, de carácter microbiológico, sensorial y físicas, entre otros, a lo largo del periodo de vida útil del alimento en estudio. (Morales, 2009).

CAPÍTULO IV: MATERIALES Y EQUIPOS

4.1. Materiales

4.1.1. Materia prima

Se utilizaron semillas de Quínoa (*Chenopodium quinoa Willd.*), provenientes de la sexta región del país.

También se empleó Enzima Transglutaminasa tipo Activa TI, Marca Ajinomoto, facilitada por la empresa Prinal.

4.1.2. Ingredientes

Para la elaboración del pan de molde se utilizaron los siguientes ingredientes: sal, levadura y azúcar granulada

4.1.3. Materiales de laboratorio

Para la realización de los ensayos y análisis se utilizaron materiales de los laboratorios de Procesos de Alimentos y Evaluación Sensorial de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile.

4.1.4. Reactivos químicos

Los reactivos químicos utilizados en los análisis realizados, son de calidad p.a. (para análisis). Se utilizaron reactivos de las marcas: Merck, y Winkler.

4.2. Equipos

Tabla 4.1. Equipos empleados.

Equipo	Especificación
Balanza granataria	Radwag Wagi Elektroniczne, modelo WTB 3000
Balanza analítica	Adam, modelo Afa 120- LC
Estufa	Heraeus, sin modelo
Rotavapor	Heidolph, modelo VV 2000
Baño termoregulado	Heidolph, modelo WB 2000
Digestor	Büchi, modelo 425
Unidad de destilación	Büchi, modelo 323
Horno mufla	Heraeus, modelo MR 170
pHmetro	WTW, modelo pH 537
Molino de alta velocidad	Phillips, modelo HR1366
Batidora	Oster, modelo 2610-051
Maquina universal de ensayo de materiales	Lloyd Instruments, modelo Lloyd LR-5K
Maquina universal de ensayo de materiales	ZHV zwicki-Line 20 / 30
Higrómetro de Pelo	Lufft, modelo a _w -Wert-Messer

CAPÍTULO V: METODOLOGÍA

5.1. Desarrollo del trabajo

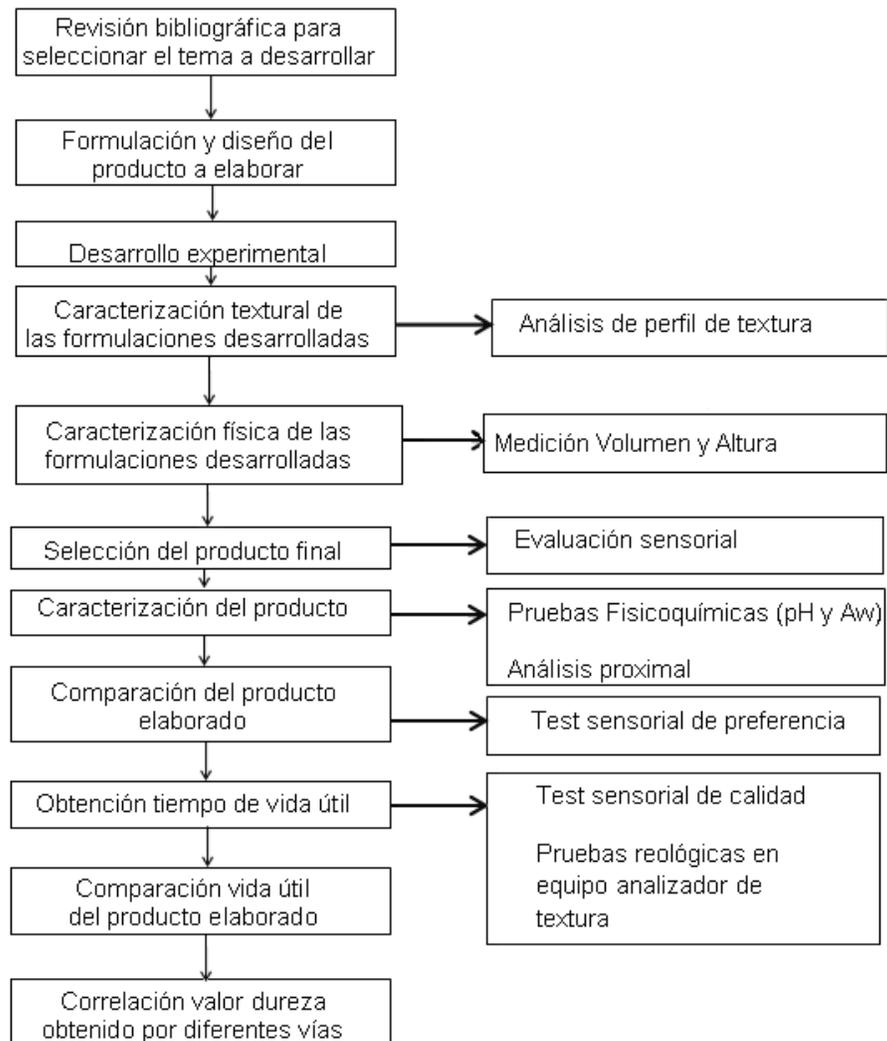


Figura 5.1.: Diagrama de bloques del trabajo a realizar.

A continuación se detallan los pasos del desarrollo del trabajo.

- **Revisión bibliográfica para seleccionar el tema a desarrollar:** Mediante una revisión bibliográfica previa se selecciona el tema a desarrollar
- **Formulación y diseño del producto a elaborar:** Mediante MSR se optimiza la formulación del producto final
- **Desarrollo experimental:** Las formulaciones obtenidas mediante MSR son desarrolladas en el laboratorio.
- **Caracterización textural de las formulaciones desarrolladas:** Mediante análisis de perfil de textura se caracterizaron los parámetros de dureza, elasticidad, adherencia y gomosidad de las distintas formulaciones desarrolladas.
- **Caracterización física de las formulaciones desarrolladas:** Las muestras fueron medidas con regla metálica. para conocer la altura que alcanzaron. El volumen de cada muestra fue medido por desplazamiento, mediante inmersión en probeta.
- **Selección del producto final:** Ésta se realiza mediante evaluación sensorial.
- **Caracterización del producto:** El producto es caracterizado fisicoquímicamente, midiendo su pH y Aw, y también nutricionalmente al realizar análisis proximal.
- **Comparación del producto elaborado:** El producto es comparado sensorialmente y mediante realización de pruebas instrumentales de dureza, con otros dos productos, uno elaborado con harina de quínoa y sin la enzima Tg; y otro elaborado bajo el mismo proceso pero con harina de trigo.
- **Obtención de la vida útil del producto:** La vida útil del producto se evalúa mediante un panel sensorial entrenado, que realiza un test de valoración de calidad en el tiempo.
- **Comparación de la vida útil del producto elaborado:** La vida útil del producto fue comparada con la vida útil de la muestra elaborada con harina de quínoa y sin la enzima Tg; y la muestra elaborada bajo el mismo proceso pero con harina de trigo.
- **Correlación valor Dureza, obtenido por diferentes vías:** El valor del parámetro Dureza, fue obtenido durante la medición de la vida útil, por vía

sensorial y vía instrumental, ambos valores fueron correlacionados estadísticamente.

5.2. Desarrollo del Producto

El proceso de elaboración del producto es obtenido a partir de publicaciones y ensayos preliminares, en que desarrollan productos de similares características. A continuación se presenta el diagrama de bloques del proceso (figura 5.2.)

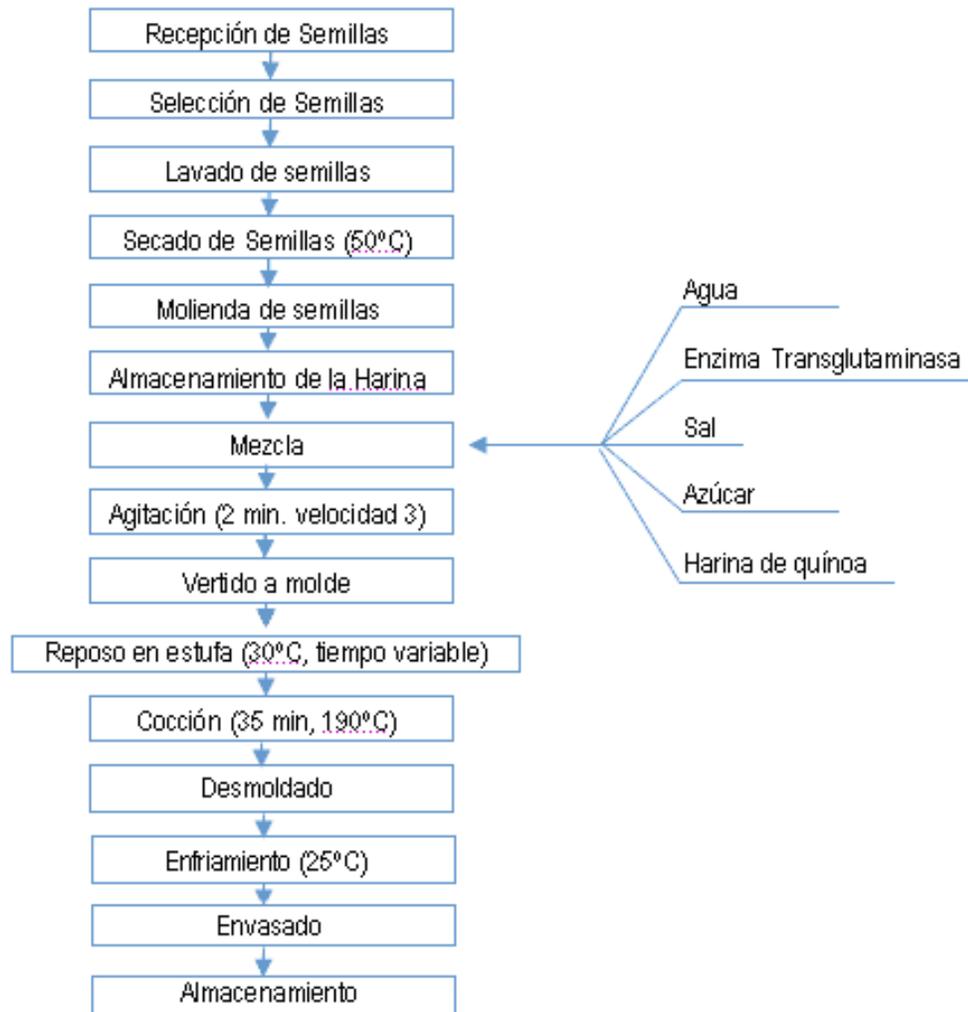


Figura 5.2. Diagrama de bloques diseño experimental pan de molde a partir de harina de quínoa y enzima Tg.

A continuación se detallan los pasos de la elaboración del pan de molde en base a harina de quínoa y enzima Tg.

- **Recepción semillas:** se recibieron las semillas y se almacenaron en un lugar limpio y seco a temperatura ambiente.
- **Selección de semillas:** se seleccionaron aquellas semillas que no presentaron imperfecciones en su superficie tales como cortes o zonas de color negro. También fueron apartados los objetos extraños y restos de capi.
- **Lavado:** se realizó, en una primera etapa, de forma manual y en una segunda etapa, se empleó el batidor eléctrico. Este último método consistía en colocar 800 gramos de semillas dentro del recipiente, adicionar agua fría hasta la medida indicada en el mismo y agitar a velocidad 2. Esta operación se realizó con el fin de eliminar las saponinas presentes en la superficie del grano de quínoa, sustancia que libera espuma en contacto con el agua. Esta acción se realizó reiteradamente hasta que no se observó espuma en el recipiente.
- **Secado:** Una vez lavadas las semillas fueron dispuestas en la bandeja de la Estufa Heraeus, con el fin de secarlas hasta que alcanzaran un 15% de humedad a 50°C.
- **Molienda:** Ésta fue realizada en el molino de martillo de alta velocidad, teniendo la precaución de emplear el filo más pequeño, para moler las semillas y elaborar la harina.
- **Almacenamiento de la Harina:** La harina fue almacenada en bolsas de papel kraft, en un lugar fresco, seco y oscuro, durante una semana, tiempo en que comenzó a utilizarse.
- **Mezclado:** Por cada formulación se emplearon 100 g de harina de quínoa, 25 g de agua, 3 g de sal, 3 g de levadura y 2 g de azúcar.
La levadura fue disuelta en 62,5 g de agua, se le adicionó el azúcar y se llevó a fermentación a 37°C por 10 minutos. Una vez fermentada se adicionó a los 100 g de harina de Quínoa previamente pesados.
Luego se procedió a disolver la enzima, pesada en balanza analítica, en el resto de agua, para ser vertido sobre la harina y la levadura fermentada.

- **Agitación:** Juntos todos los ingredientes se procedió a agitar con batidora eléctrica por 2 minutos, teniendo la precaución de utilizar el batidor espiral, indicado para batidos más viscosos.
- **Vertido a Molde:** Cada mezcla elaborada fue dispuesta en moldes de 10 cm de largo x 6 cm de ancho. Los moldes fueron previamente untados con mantequilla (para ayudar en el desmolde del pan).
- **Reposo en Estufa:** El molde con el batido fue ubicado en estufa a 30°C, por 15, 30 ó 45 minutos, de acuerdo a la formulación a elaborar.
- **Cocción:** la temperatura de la estufa fue elevada a 190°C, donde se procedió a hornear el pan por 35 minutos.
- **Desmoldado:** Una vez horneado, el pan fue retirado de la estufa y desmoldado
- **Enfriamiento:** El enfriamiento del pan se realizó una vez retirado del molde, a temperatura ambiente, a 25°C.
- **Envasado:** el envasado se realizó en bolsas PET, que fueron selladas luego de haber introducido el pan.
- **Almacenamiento:** los envases fueron almacenados a temperatura ambiente en un lugar fresco, seco y limpio para sus posteriores análisis.

5.3. Diseño Experimental

Los ingredientes del producto son: harina de quínoa, enzima Transglutaminasa (Tg), levadura, sal, azúcar y agua. Las cantidades de todos los ingredientes utilizados, fueron obtenidas de bibliografía de ensayos anteriores, elaborados con harina libre de gluten, de otros cereales (Renzetti. 2008).

La cantidad de enzima a adicionar fue calculada en base a la cantidad de proteína cruda presente en cada mezcla, según lo indicado por Renzetti (Renzetti y Col., 2008) los valores óptimos de actividad enzimática debieran estar entre 1 y 10U de enzima Tg/g de proteína. Si se considera que el polvo entregado por el proveedor de la enzima, compuesto por Enzima Tg y maltodextrina, posee 100UTg/g y que la harina de

Quínoa posee 14,2g proteína/ 100g de harina (Abugoch y Col., 2009), las cantidades adicionadas de enzima a las distintas preparaciones fueron 0U (0 g de polvo); 1U (0,142g de polvo) y 10U (1,42g de polvo), en cada caso.

La enzima Tg es el único ingrediente que presenta sensibilidad a las temperaturas y a los tiempos de exposición de la misma, por lo que se decidió optimizar la formulación del pan de molde en función de la cantidad y tiempo de exposición a la temperatura de la enzima, manteniéndose constantes los demás ingredientes del pan.

La temperatura de acción de la enzima Tg se mantuvo constante para todas las muestras, esta fue de 30°C, que es la temperatura recomendada por el fabricante para los tiempo de acción seleccionados de ensayos anteriores (Renzetti y Col., 2008). El pH del batido al que se adicionó la enzima fue de 5,33; medido en un potenciómetro a 20°C, pH óptimo para la acción enzimática de la enzima Tg.

5.4. Caracterización de muestras elaboradas

5.4.1. Volumen y Altura

Se tomaron muestras, en triplicado, de los 10 panes elaborados, con el fin de conocer su volumen y altura alcanzada, luego del horneado. Éstas se obtuvieron trozando el pan en rebanadas de 1cm de ancho.

La altura fue medida con regla, desde la base a la parte superior de cada rebanada, tomándose tres puntos de medición por cada trozo (extremo izquierdo, derecho y en el centro).

El volumen fue medido por desplazamiento de semillas de amapola, en una probeta de 5 cm de diámetro. Dentro de la probeta se ubicaron las semillas y se midió la altura que estas alcanzaron, luego la probeta fue vaciada completamente, para ubicar el trozo de pan a medir en el fondo de la probeta, e inmediatamente después se volvió a llenar con las mismas semillas previamente medidas. La nueva altura (superior a la altura

medida en primera instancia) fue registrada para luego obtener la diferencia de alturas, necesaria para conocer el volumen desplazado por el trozo de pan.

5.4.2. Análisis de perfil de textura

Se realizó el test TPA (Textural Profile Analyses) el que permitió conocer instrumentalmente los valores de Dureza, Cohesividad, Gomosidad y Elasticidad. El test se desarrolló de acuerdo al Método 74 - 09 AACC (1997), donde se indica que la probeta de ensayo debe ser cilíndrica de 25 mm de diámetro, la que realiza una doble compresión de la muestra a un 50% del tamaño de la misma, este ensayo debe ser realizado a temperatura ambiente y constante durante la evaluación de todas las muestras ensayadas. El equipo empleado fue la Máquina Universal de Ensayos de Materiales (Zwick / Roell, ZHV zwicki-Line 20 / 30).

Los datos fueron analizados mediante Anova multifactorial en el Software Statgraphics 4.0 para determinar la existencia de diferencias significativas entre muestras y entre los datos obtenidos mediante análisis instrumental.

5.5. Optimización de la Formulación

A cada una de las formulaciones se le realizó una evaluación sensorial consistente en un test de aceptabilidad con escala hedónica de 7 puntos, realizada por 20 jueces donde señalaron su nivel de preferencia:

Tabla 5.1. Indica los niveles de preferencia y las notas asignadas a cada uno.

Nota	Nivel de Preferencia
1	Me desagrada mucho
2	Me desagrada
3	Me desagrada levemente
4	No me gusta ni me disgusta
5	Me gusta levemente
6	Me gusta
7	Me gusta mucho

Se evaluaron 20 respuestas, que fueron optimizadas, para conocer la apreciación del consumidor, empleando el Software Statgraphics 4.0. Se usó análisis de varianza para determinar efectos significativos de las variables independientes (cantidad de enzima Tg y tiempo de acción de la misma) sobre las respuestas obtenidas de acuerdo a cada corrida experimental.

Para la obtención de la formulación del pan de molde se estableció un diseño experimental factorial 3^2 más 1 punto central por bloque ($3^2 + 1$), utilizándose sólo un bloque.

El diseño escogido requirió 10 experimentos para 2 variables independientes del proceso (A y B). Las variables del proceso fueron:

- A: Cantidad enzima Tg (g)
- B: Tiempo (min)

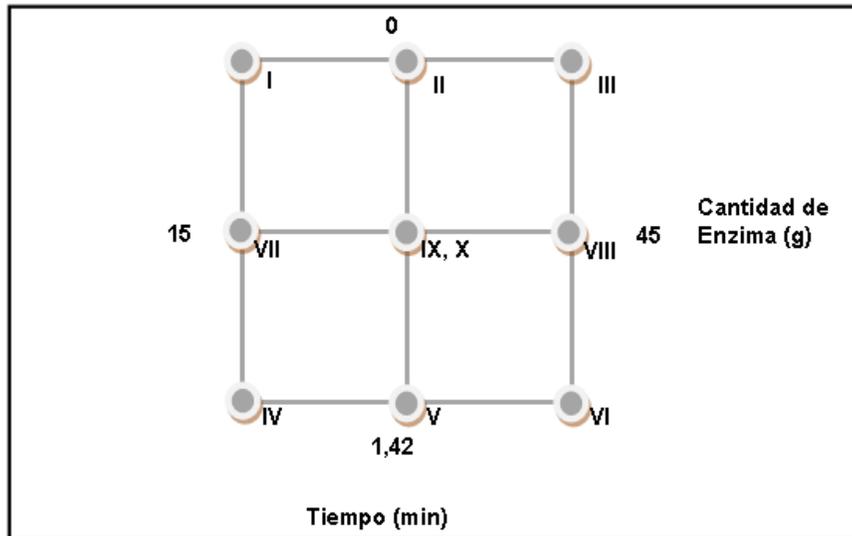


Figura 5.3. Diseño experimental del producto, en base a la cantidad y tiempo de acción de la enzima Tg.

La figura 6.1 muestra el diseño experimental aplicado en este caso, este es un diseño bidimensional que considera 2 variables independientes representadas en los ejes verticales (cantidad de enzima) y horizontales (tiempo de acción enzimática). En ella se puede apreciar que el modelo escogido permite evaluar de manera representativa todas las formulaciones posibles a partir de los límites iniciales.

Para predecir el diseño se utilizó el creador y analizador de diseño para optimizar las respuestas correspondientes a cada parámetro evaluado y, se utilizó también, el optimizador de respuestas múltiples del programa estadístico Statgraphics 4.0, para identificar la configuración de factores que optimiza un conjunto de respuestas.

Se utilizó la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) para determinar los efectos de los factores sobre la respuesta de aceptabilidad general, y de resistencia a la primera mordida del pan de molde a base de harina de quínoa y enzima Tg.

5.6. Caracterización Nutricional, y Fisicoquímica del Producto optimizado

Los resultados presentados para la caracterización nutricional y fisicoquímica del producto se obtuvieron a partir de ensayos y análisis en triplicado

5.6.1. Caracterización nutricional, Análisis Proximal

- **Determinación de materia grasa:** se determinó el contenido de grasa mediante el método de Hidrólisis Ácida, de acuerdo al método oficial de la A.O.A.C. 935.38 (1997).
- **Determinación de cenizas totales:** se determinó el contenido de acuerdo al método oficial de la A.O.A.C. 923.03 (1997). La determinación consiste en calcinar 5 g de muestra en una mufla a 550°C hasta que las cenizas adquieran un color blanco. A partir del residuo se determinó el contenido total de cenizas.
- **Determinación de proteínas:** se estimó el contenido total de proteína bruta a partir de la cuantificación del nitrógeno total de la muestra mediante el método de Kjeldahl descrito en el método oficial de A.O.A.C. 920.87 (1997) ($N \times 6,25$).
- **Determinación del contenido de carbohidratos totales:** se realizó mediante el método calorimétrico de Antrona descrito por Witham y col. (1971).
- **Determinación del contenido de humedad total:** se determinó el contenido total de humedad mediante método termogravimétrico a 105°C y presión atmosférica en estufa con aire forzado, descrito en el método oficial A.O.A.C. 925.10 (1997)
- **Determinación del contenido calórico:** se calculó el contenido calórico a partir de las siguientes equivalencias calóricas para el contenido de carbohidratos, proteínas y grasas presentes en el pan elaborado: 1 g de carbohidratos = 4 calorías; 1 gramo de proteínas= 4 calorías; 1 gramo de grasa= 9 calorías.

5.6.2. Caracterización fisicoquímica

5.6.2.1. Determinación de la actividad de agua (a_w)

Se determinó la actividad de agua (a_w) de la muestra en el higrómetro de pelo. La muestra se dejó en los recipientes del equipo hasta que la aguja no mostró variación (tiempo aproximado de 3 horas). Los ensayos se realizaron a 20°C.

5.6.2.2. Determinación de pH

Se determinó el pH de la mezcla mediante el método potenciométrico de la AOAC 945.42, (1997), éste fue medido a 20°C.

5.7. Perfil Descriptivo del Pan elaborado con Harina de Quínoa y Enzima Tg

Se realizó un entrenamiento de 3 sesiones a un panel de 8 jueces pertenecientes a la carrera de Ingeniería en Alimentos de la Universidad de Chile, todos con previa experiencia en evaluaciones sensoriales. De las sesiones de entrenamiento se recogieron aquellos atributos que mejor describían el producto.

Una vez finalizado el entrenamiento, se realizó un test descriptivo con escala lineal no estructurada donde se evaluaron los siguientes atributos del producto: color de la corteza, color de la miga, apariencia, aroma, flexibilidad al juntar sus lados, sabor, textura (medida en la boca). Paralelamente se realizó un perfil descriptivo de un producto control (Pan con harina de quínoa sin enzima Tg), para el posterior contraste con el producto elaborado.

Los datos fueron analizados mediante Anova multifactorial en el Software Statgraphics 4.0 para determinar la existencia de diferencias significativas entre jueces y muestras.

5.8. Determinación de la Vida Útil. Sensorial e instrumental.

Para esta determinación se realizaron 3 muestras diferentes, elaboradas bajo un mismo procedimiento, pero variando su composición. La primera correspondió al producto optimizado, la segunda fue elaborada con harina de quínoa sin enzima Tg y la tercera se realizó con harina de trigo integral. La muestra elaborada con harina de quínoa y sin adición de enzima se empleó como blanco, con el fin de observar diferencias en la vida útil al agregar enzima Tg; y la muestra elaborada con harina de trigo integral se elaboró con el fin de comparar el producto desarrollado un producto de consumo habitual para la población chilena, pero sin adición de preservantes.

5.8.1. Determinación vida útil mediante análisis sensorial de Karlsruhe

Las muestras fueron elaboradas e inmediatamente almacenadas en las mismas condiciones en que se comercializa el pan de molde en el mercado. Es decir, una vez que el pan está frío es dispuesto dentro de bolsas plásticas (PET), luego estas son debidamente selladas y almacenadas a temperatura ambiente.

Desde el primer día de elaboración, y de forma diaria, las muestras fueron evaluadas mediante el método de Karlsruhe, por un panel de jueces entrenados que evaluó su calidad y deterioro en el tiempo.

El test midió todos los parámetros de calidad empleados actualmente en la industria panadera chilena (Rodríguez, 2011), estos fueron: Color de la Corteza, Color de la Miga, Forma, Olor, Textura y Calidad Total. El parámetro sabor no se considera dentro de los parámetros para evaluación de deterioro de pan en la actualidad en la industria panadera, por lo que tampoco se incluyó en este trabajo; esto permitió que la realización del test de calidad no presentara riesgos para los panelistas.

Las muestras fueron evaluadas con una escala de 1 a 9, considerando de 1 a 3 Deterioro Indeseable, entre 4 y 6 Deterioro Tolerable y entre 7 y 9 Características Típicas.

Este test debía repetirse hasta el día en que los jueces calificaron la muestra con un valor menor a 4 puntos, en la escala hedónica de 9 puntos, lo que indica que la muestra presentó a ese momento características inaceptables para el consumidor.

5.8.2. Determinación de la dureza del producto durante la vida útil, mediante análisis de textura.

Se realizó un test de compresión a velocidad constante para evaluar el cambio en la textura del producto elaborado en el tiempo. Se determinó la dureza de la muestra mediante la curva Esfuerzo - Deformación obtenida de la Máquina Universal de Ensayos de Materiales (Lloyd LR-5K) con un vástago cilíndrico ($d= 8\text{mm}$) con celda de carga 100 N. Se ensayaron rebanadas de cada pan (ancho= 10mm), a 20°C de temperatura. Las muestras fueron comprimidas al 50% a velocidad de 20 mm/min.

Este ensayo fue realizado en triplicado, bajo las mismas condiciones de ensayo, para las tres muestras elaboradas.

5.8.3. Correlación respuesta Dureza, obtenida por vía sensorial y por vía instrumental

Los resultados obtenidos del panel de jueces entrenados, en la evaluación del parámetro dureza, fueron correlacionados con los obtenidos mediante la medición instrumental en el equipo Lloyd, gracias al software Statgraphics 4.0

CAPÍTULO VI: RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1. Diseño experimental

El diseño experimental empleado, $3^2 + 1$, determinó los 10 experimentos diferentes que se realizaron, de acuerdo a los límites antes establecidos. A continuación se señalan los 10 experimentos realizados.

Tabla 6.1. Cantidad de enzima y tiempos de los diseños experimentales desarrollados según el modelo empleado, modelo factorial $3^2 + 1$ punto central.

Experimento	VARIABLES INDEPENDIENTES	
	A: Cantidad enzima (U Enzima Tg / g de proteína)	B: Tiempo (min)
I	-1 (0 U Enzima/g proteína)	-1 (15 min)
II	-1	0 (30 min)
III	-1	1 (45 min)
IV	1 (10 U Enzima/g proteína)	-1
V	1	0
VI	1	1
VII	0 (1 U Enzima/g proteína)	-1
VIII	0	1
IX	0	0
X	0	0

6.2. Caracterización muestras elaboradas

6.2.1. Forma de las muestras elaboradas

En la figura 6.1 se presentan las 10 formulaciones elaboradas:

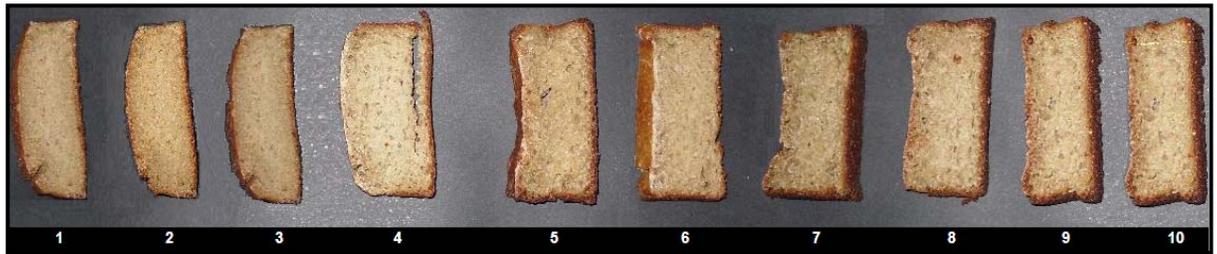


Figura 6.1.: Fotografías de las 10 muestras desarrolladas

En la figura 6.1 se observa que las muestras 1, 2 y 3, elaboradas sin enzima Tg, presentan una forma redondeada y caída hacia los extremos, esto se debe a que en el horneado la masa que no contenía enzima Tg no subió de forma pareja, sino que lo hizo en mayor medida al centro, obteniéndose la forma típica que adquieren los panes elaborados únicamente con granos andinos, sin mezclas con harina de trigo, que brinda su soporte gracias al gluten (Rosell, 2009).

La muestra número 4 presenta una forma intermedia, entre rectangular y levemente curva en sus extremos, además de un trozo roto en la superficie inferior, realizado al momento de retirar el pan desde el molde de elaboración. Ambas cosas, su forma y su trozo roto pueden deberse a que este pan se elaboró solo con 15 minutos de acción enzimática, y por ende, tuvo menos tiempo para la formación de la red proteica que le da soporte y resistencia al pan (Ajinomoto Food Ingredients, 2011)

La muestra 7 presenta una forma rectangular con un leve hundimiento en su zona central, su forma puede deberse a que contiene la mayor cantidad de enzima testeada en las formulaciones, 10U; sin embargo, su hundimiento puede deberse al poco tiempo de acción enzimática al que fue sometido, 15 min (Renzetti y Col., 2008).

Las muestras 5, 6, 8, 9 y 10 presentan una forma rectangular regular, sin hundimientos ni redondeces, y sus formas son similares entre ellos. La forma de estas muestras que sí contienen enzima Tg, y que tuvieron un tiempo de acción enzimática de 30 a 45 minutos se asemeja al la forma que adoptan los panes al reemplazar un 50% de harina de quínoa por harina de trigo (Rosell y col., 2009), dicho reemplazo le da un soporte al pan, creado por la red proteica proveniente del gluten, presente en la harina de trigo, similar al que brinda la adición de enzima Transglutaminasa.

En el siguiente gráfico se aprecian las diferentes alturas y volúmenes alcanzados, que presentaron las 10 distintas formulaciones de pan realizadas, una vez que las muestras fueron horneadas.

6.2.2. Altura y Volumen Alcanzados

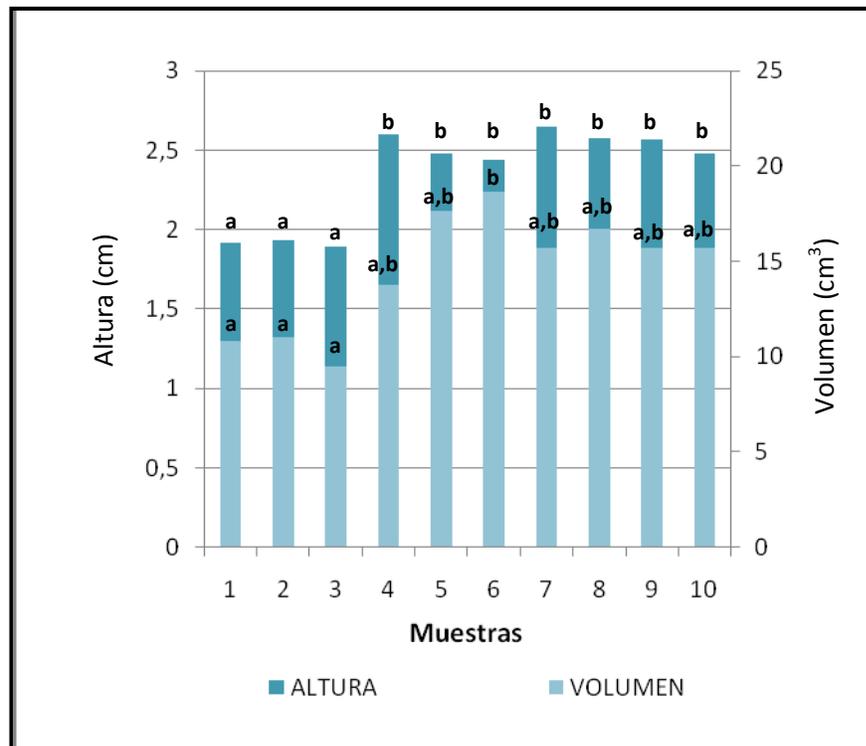


Gráfico 6.1: Alturas y volúmenes de las muestras elaboradas. Letras diferentes indican diferencias significativas (p – valor $\leq 0,05$).

En el parámetro altura, se observan diferencias significativas entre las muestras, que contenían y las que no contenían enzima Tg, sin embargo, no se observan diferencias significativas entre las muestras que contienen la enzima (p – valor $\leq 0,05$).

Las muestras 1, 2 y 3, que no contenían enzima Tg, presentaron la menor altura, que nunca superó los 1,93 cm. En estas formulaciones, se obtuvo un resultado previamente esperado, ya que en experimentos anteriores de elaboración de pan con

harina de quínoa se obtuvo una masa de baja extensibilidad, que originó un pan chato y de poca altura (Rosell y col., 2009). Por el contrario los panes que si contenían enzima Tg no presentan diferencias entre sí para este parámetro, siendo la mayor altura alcanzada por la muestra 7, que sí contenía enzima Tg, ésta fue de 2,65 cm. Lo anterior puede explicarse por la presencia del soporte proteico brindado por la enzima, que es similar al que brinda el gluten al ser incorporado en la elaboración de panes con harina de quínoa. Rosell señala que al mezclar harina de trigo con harina de quínoa en una proporción 80 : 20, se obtiene una masa extensible, y un pan de características sensoriales y físicas que se asemejan al elaborado únicamente con harina de trigo (Rosell y col., 2009). Los panes que si contenían enzima Tg se diferencian de los que no la contenían en su estructura pues poseen celdas de aire y su tamaño es mayor. En la figura 6.2 se observa una fotografía comparativa entre un pan con 10 U de enzima Tg y otro sin enzima Tg



Figura 6.2: A la izquierda se presenta el pan elaborado con enzima Tg, y a la derecha el pan elaborado sin enzima Tg

En el parámetro volumen se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p - \text{valor} \leq 0,05$) entre las muestras que no contenían enzima Tg (muestras 1,2 y 3). El volumen de los panes que presentaron mayor altura, es decir, las muestras 4, 7 y 8, es menor que el volumen de las muestras 5 y 6, cuya altura es levemente inferior a la de las otras muestras. Lo anterior puede deberse a que la miga de las muestras 5 y 6 es más compacta y por ende ocupa un mayor volumen que la miga de las muestras de

mayor altura, pero de miga menos compacta por poseer una mayor cantidad de alvéolos de aire.

La adición de enzima Tg tiene un efecto en el volumen específico del pan. Esto se observa en los panes que contienen mayor cantidad de enzima Tg, como las muestras 5 y 6, ya que poseen una estructura más compacta y un volumen superior al alcanzado por los demás panes elaborados (Moore y col, 2006).

La adición de enzima Tg, promueve la formación de una red proteica, que a su vez promueve el volumen final del pan, sin embargo, esto no sería posible sin los residuos de glutamina y lisina presente en la harina de quínoa, ya que estos aminoácidos son el sustrato para llevar a cabo la reacción de entrecruzamiento (Moore y col, 2006).

6.2.3. Análisis de Perfil de Textura

Del análisis de perfil de textura realizado se obtuvieron los datos que se presentan en la tabla 6.2.

Tabla 6.2. Cuadro resumen valores obtenidos en el test TPA. Letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras (p -valor $\leq 0,05$).

Muestra	Dureza (g)	Cohesividad	Gomosidad (g)	Elasticidad
1	1931,12 \pm 0,5 c	0,48 \pm 0,01	934,55 \pm 0,8c	0,85 \pm 0,01
2	1929 \pm 0,8 c	0,48 \pm 0,01	934,8 \pm 0,5 c	0,85 \pm 0,01
3	1931 \pm 0,5 c	0,48 \pm 0,01	933 \pm 0,5 c	0,85 \pm 0,01
4	719,53 \pm 1,2 a	0,55 \pm 0,02	392,87 \pm 1,2 a	0,89 \pm 0,02
5	1293,67 \pm 2,2 b	0,52 \pm 0,01	667,93 \pm 1,8 b	0,86 \pm 0,01
6	952,55 \pm 1,2a,b	0,48 \pm 0,01	459,88 \pm 1,2 a	0,84 \pm 0,01
7	958,72 \pm 1,8 a,b	0,49 \pm 0,02	468,83 \pm 1,8 a	0,85 \pm 0,02
8	760,84 \pm 2,2 a	0,49 \pm 0,01	372,74 \pm 1,8 a	0,85 \pm 0,02
9	979,18 \pm 1,8 a,b	0,49 \pm 0,02	476,07 \pm 1,8 a	0,86 \pm 0,02
10	979,18 \pm 1,2 a,b	0,49 \pm 0,02	476,07 \pm 1,2 a	0,86 \pm 0,02

Los parámetros que presentaron diferencias significativas entre las muestras elaboradas fueron Dureza y Gomosidad. En el parámetro Dureza las muestras 1,2 y 3, elaboradas a base de harina de Quínoa y libres de Enzima Tg, son las que presentaron los mayores valores, diferenciándose por completo del resto de las muestras evaluadas. En el caso del parámetro Gomosidad nuevamente estas muestras (1, 2 y 3) son las que presentan el mayor valor y que se diferencian totalmente de las otras muestras evaluadas.

Las muestras que no contenían enzima Tg, no poseen una red proteica, por lo tanto, poseen una menor retención de gas, lo que origina una baja porosidad y bajo volumen, esto origina poros de paredes más gruesas, que aumentan la resistencia a la deformación, y por ende su dureza (Tomoskozi y col., 2011). Para una mayor claridad se presentan los gráficos 6.2 y 6.3 en que se ilustran los valores obtenidos

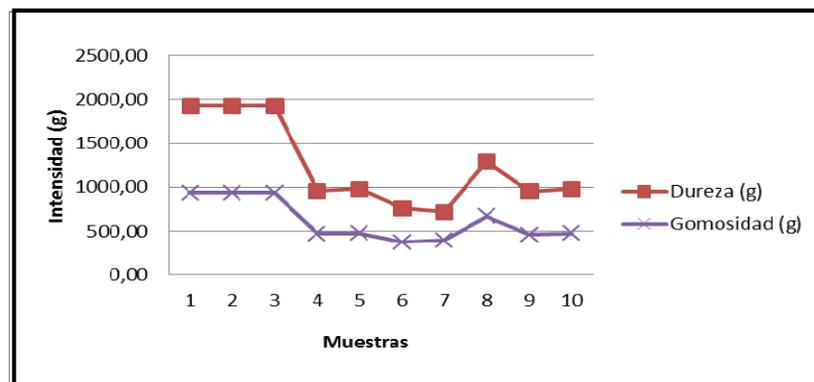


Gráfico 6.2: Valores de los parámetros Dureza y Gomosidad, obtenidos en el perfil de textura (TPA).

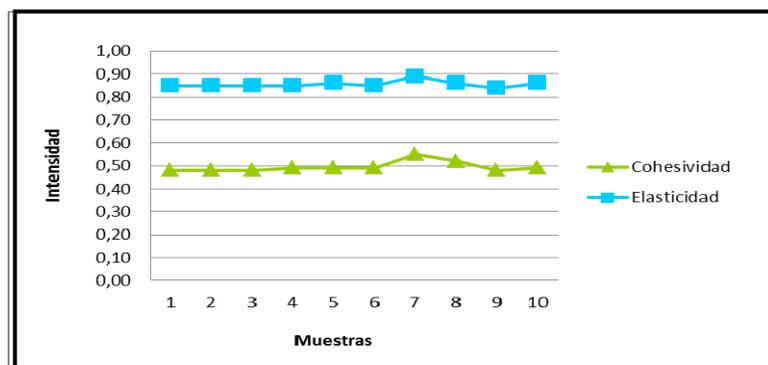


Gráfico 6.3. Valores de los parámetros Cohesividad y Elasticidad obtenidos en el perfil de textura (TPA).

Se observa que la mayor dureza, entre las muestras que si contenían enzima Tg, se alcanzó al dejar actuar la enzima por 30 minutos, para ambas cantidades de enzima ensayadas. Esto puede indicar que a 15 min de acción enzimática el efecto de entrecruzamiento enzimático alcanzado es bajo, y que a 45 min de exposición a los 30°C puede existir denaturación de la enzima, ambas situaciones reducirían el efecto de entrecruzamiento y por ende la dureza del pan. También se aprecia con claridad que las curvas de los parámetros Dureza y Gomosidad tienen un comportamiento similar, esto se debe a que la Gomosidad es el producto de la dureza y la cohesividad, por lo que al tener la cohesividad valores bajos, como los que presentaron las muestras evaluadas, la curva de Gomosidad que se obtiene es muy similar a la de Dureza pero con valores mas bajos (Steffe. 1996).

El Análisis de Perfil de Textura (TPA) arrojó gráficos similares al que se presenta en la figura 6.4.

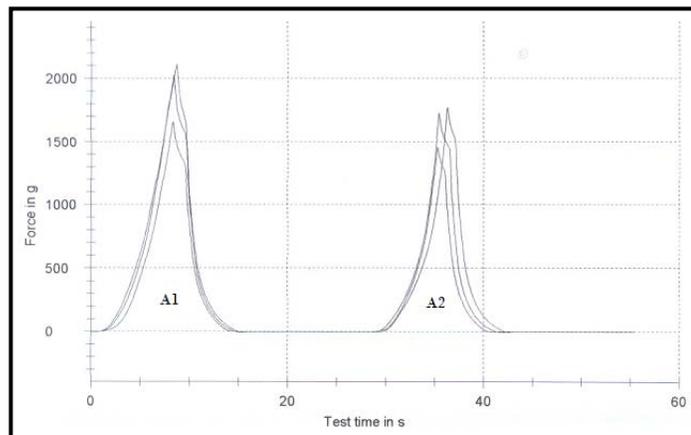


Gráfico 6.4 Curva de Perfil de Textura obtenida desde el Equipo de Ensayos Universales Zwick / Roell, ZHV zwicki-Line 20 / 30, al analizar las muestras de pan.

Las áreas 1 y 2 se generan al momento de someter la muestra a la doble compresión que se realiza en el ensayo de TPA, ensayo realizado como fue descrito en el capítulo V.

El primer peak es más elevado que el segundo, lo que concuerda con el tipo de muestra analizada, ya que éste indica la fuerza aplicada al realizar la primera compresión. Como la muestra corresponde a un alimento esponjoso la fuerza de la

primera compresión debilita sus paredes, las que en una segunda compresión ofrecen una menor resistencia, necesitándose una menor fuerza para realizarla y por ende genera un peak menor. El comportamiento de alimento esponjoso que tiene el pan, hace que durante la primera compresión (A1) pase por tres etapas: Deformación de la matriz original, colapso de las paredes celulares y densificación. Durante la segunda compresión (A2) las células de aire, que son las que contribuyen a la resistencia original de la espuma, presentan una resistencia muy baja o nula, ya que se debilitan o eliminan durante el colapso de la primera compresión, que rompe las paredes celulares (Castro, 1999).

Se observa que los valores más bajos los tiene el parámetro Cohesividad, debido a que éste se obtiene al dividir el área 2 (área bajo la curva) por el área 1 ($A2/A1$), y cómo en este caso A2 es menor que A1, el valor de la Cohesividad es muy bajo (Steffe. 1996).

Se observa también, que la Elasticidad es baja, esto indica que la altura que recupera el alimento después de la primera y segunda compresión es poca, pero los valores están dentro de los rangos normales de elasticidad para pan de molde de otros cereales como trigo (Castro, 1999).

6.3. Optimización de la Formulación

6.3.1. Análisis sensorial de Consumidores.

La Tabla 6.3 muestra los resultados promedio del test sensorial realizado para evaluar los parámetros Apariencia, Esponjosidad de la miga, Aroma, Resistencia a la primera y segunda mordida, Sabor, Sabor residual y Aceptabilidad general del producto influenciada por la cantidad y tiempo de acción de la enzima Tg.

Tabla 6.3.: Puntajes promedios de las 10 muestras desarrolladas, obtenidos en la evaluación. Letras diferentes en una misma columna implica diferencias significativas ($p \leq 0,05$) de acuerdo al Test de Rangos Múltiples (Tukey).

Muestra N°	VARIABLES INDEPENDIENTES		VARIABLES RESPUESTAS							
	A: Cantidad de Enzima (g)	B: Tiempo (g)	1. Apariencia	2. Esponjosidad miga	3. Aroma	4. Resistencia 1° mordida	5. Resistencia 2° mordida	6. Sabor	7. Sabor Residual	8. Aceptabilidad General
I	0	15	3,67 a	3,89 a	3,33 a	4,38 a	4,11 a	3,11 a	3,00 a	3,44 a
II	0	30	3,67 a	3,89 a	3,33 a	4,38 a	4,11 a	3,11 a	3,00 a	3,44 a
III	0	45	3,67 a	3,89 a	3,33 a	4,38 a	4,11 a	3,11 a	3,00 a	3,44 a
IV	1,42	15	5,22 a,b	5,11 a	4,67 b	5,75 b	5,56 b	5,11 b	5,00 b	5,44 b
V	1,42	30	4,00 a,b	4,56 a	5,33 b,c	5,75 b	5,33 a,b	5,11 b	5,00 b	5,11 b
VI	1,42	45	5,67 b	5,44 a	5,20 b	6,00 b	5,89 b	5,44 b	5,33 b	5,56 b
VII	0,142	15	5,00 a,b	5,56 a	5,44 b,c	6,00 b	5,44 b	4,78 a,b	4,67 a,b	5,11 b
VIII	0,142	45	5,44 a,b	5,56 a	5,90 c	6,00 b	6,00 b	5,00 b	5,00 b	5,10 b
IX	0,142	30	5,44 a,b	5,67 a	5,44 b,c	5,75 b	5,44 b	4,89 a,b	4,44 a,b	4,89 b
X	0,142	30	5,44 a,b	5,67 a	5,44 b,c	5,75 b	5,44 b	4,89 b	4,44 b	4,89 b

La tabla 6.3 muestra los puntajes promedios obtenidos por las distintas muestras en cada parámetro evaluado, los recuadros en que presentan valores en negrita resaltan el puntaje más alto y más bajo obtenidos en cada parámetro.

Se observa que la muestra VI, presenta 4 puntajes promedio más altos, en los parámetros Apariencia, Sabor, Sabor residual y Aceptabilidad general).

La muestra VIII, que al igual que la muestra VI, fue elaborada con enzima Tg, durante 45 minutos de tiempo de acción, presenta 3 puntajes promedios superiores, en los parámetros: Esponjosidad de la miga, y Resistencia a la primera y segunda

mordida. Es decir, son las muestras mejor evaluadas respecto a parámetros reológicos y/o texturales.

Se observa también que los puntajes promedios más bajos de todos los parámetros evaluados sensorialmente se encuentran repartidos entre las muestras que no contenían enzima Tg, es decir, las muestras I, II y III.

Las preferencias de los evaluadores se inclinan por los panes que sí contenían enzima Tg, cuyos valores son los más elevados, presentando diferencias estadísticamente significativas ($p \geq 0,05$) con los valores de las muestras que no contenían enzima Tg, para los parámetros Aroma, Resistencia a la primera mordida, Resistencia a la segunda mordida, Sabor, Sabor residual y Aceptabilidad general.

6.3.2. Análisis estadístico y optimización de la formulación

A continuación se presentan los efectos de las variables del proceso (cantidad de enzima Tg y tiempo de acción de la enzima) sobre las variables sensoriales (Apariencia, Esponjosidad de la miga, Resistencia a la primera mordida, Resistencia a la segunda mordida, Sabor, Sabor residual y Aceptabilidad general).

Tabla 6.4: Tabla resumen de las concentraciones óptimas de enzima y tiempos de acción.

Respuesta	Variable que afecta la respuesta	Optimización	
		Cantidad enzima (g)	Tiempo (min)
Apariencia	Cantidad enzima	0,7702	45
Esponjosidad de la miga	Cantidad enzima	0,7597	45
Aroma	Cantidad enzima	0,7697	45
Resistencia a 1ª mordida	Cantidad enzima	0,7831	45
Resistencia a 2ª mordida	Cantidad enzima	0,7824	45
Sabor	Cantidad enzima y Tiempo	0,7985	45
Sabor residual	Cantidad enzima	0,8133	45
Aceptabilidad General	Cantidad enzima	0,802	45

Se presenta el diagrama de Pareto y la gráfica de superficie de respuesta de la Aceptabilidad general, por ser representativa de las demás variables de respuestas optimizadas, éstas pueden encontrarse en el Anexo 3.

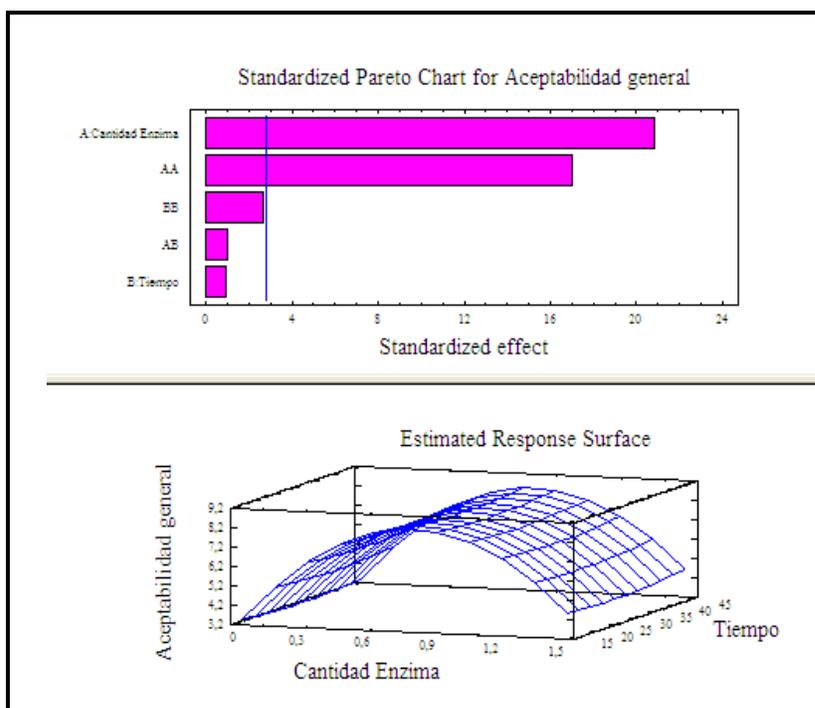


Figura 6.3.: Diagrama de Pareto y Gráfica de superficie de respuesta para Aceptabilidad general

En el diagrama de Pareto se observa que la variable cantidad de enzima, el efecto cuadrático y el tiempo de acción enzimática tienen un efecto significativo sobre la respuesta Aceptabilidad General. Esto se repite en las 8 respuestas optimizadas, que pueden observarse en el Anexo 3. Sólo en las respuestas Apariencia, Resistencia a la segunda mordida, y Sabor residual. La variable tiempo no tiene un efecto significativo sobre las otras respuestas evaluadas.

En la gráfica de Superficie de Respuesta se observa que el punto óptimo se encuentra aproximadamente en el centro de la variable cantidad de enzima y es de 0,802 g de enzima. Se observa también que ésta disminuye en ambos extremos, superior e inferior, pues la superficie cae. En la variable tiempo se observa una elevación en el extremo máximo (a los 45 minutos), sin embargo, el aumento es moderado desde el extremo inferior al punto óptimo.

En las otras 7 respuestas optimizadas se obtuvieron valores levemente inferiores de cantidad de enzima Tg, que varían entre 0,7597 y 0,7985 g de enzima Tg.

Tabla 6.5. Modelos de correlación entre las variables respuesta y las variables independientes.

Parámetro	Ecuación	R ²
Apariencia	$4,62 + 12,61 X - 0,08 Y - 8,42 X^2 + 0,01 XY$	81,15%
Esponjosidad de la miga	$4,39 + 13,57 X - 0,04 Y - 9,15 X^2 + 0,01 XY$	94,69%
Aroma	$3,1 + 17,07 X + 0,01 Y - 11,29 X^2 + 0,01 XY$	97,84%
Resistencia a 1ª mordida	$4,79 + 11,62 X - 0,03 Y - 7,56 X^2$	99,46%
Resistencia a 2ª mordida	$4,68 + 11,53 X - 0,06 Y - 7,4 X^2$	97,44%
Sabor	$3,16 + 13,82 X - 0,01 Y - 8,8 X^2 + 0,01 XY$	99,72%
Sabor residual	$3,65 + 12,73 X - 0,06 Y - 8,01 X^2$	98,85%
Aceptabilidad general	$4,08 + 12,48 X - 0,05 Y - 7,92 X^2$	99,22%

Donde:

X = Cantidad de enzima Tg (g)

Y = Tiempo de acción enzimática (min)

Se observa que el modelo planteado para el parámetro Apariencia explica en menor porcentaje la variabilidad de éste (R² = 81,1469%) y le sigue el modelo planteado para el parámetro Esponjosidad de la miga (94,6864%); para los demás parámetros el modelo planteado explica sus variabilidades sobre el 95%.

Mediante la herramienta computacional Statgraphics 4.0, se optimizó la formulación del producto respecto las 8 respuestas: Apariencia, Esponjosidad de la miga, Aroma, Resistencia a la primera y segunda mordida, Sabor, Sabor residual y Aceptabilidad general. La optimización en conjunto de las variables del proceso permitió combinar

todas las variables sensoriales, de manera simultánea, aumentando al máximo la función de conveniencia.

Las gráficas presentadas en la figura 6.4 muestran la función de conveniencia evaluada en cada punto del diseño experimental.

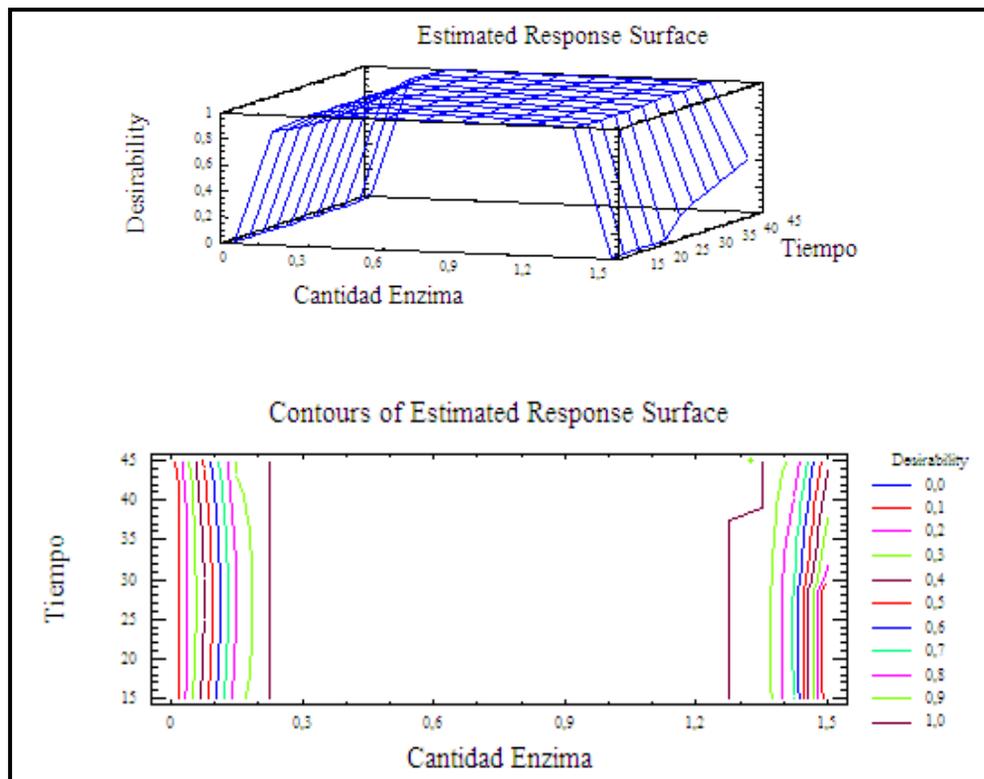


Figura 6.4. Superficie de respuesta de optimización múltiple y Gráfica de respuesta de contorno de optimización múltiple

La superficie de respuesta indica que el modelo de optimización depende de ambas variables. Se puede observar que el óptimo se obtiene al maximizar la superficie de respuesta y que éste se encuentra en la región superior de Cantidad de enzima Tg, y casi en el máximo de Tiempo de acción enzimática.

La optimización múltiple de las variables respuesta permitió determinar los valores óptimos para realizar la formulación del pan de molde de quínoa que cumpliera con las

características sensoriales deseadas. En la tabla 6.6 se presenta la respuesta múltiple optimizada para el pan de molde de quínoa.

Tabla 6.6. Valor óptimo de conveniencia

Valor óptimo de Conveniencia		0,92	
Variable	Mínimo	Máximo	Óptimo
Cantidad de harina (g)	0	1,42	1,33
Tiempo (min)	15	45	44,9

El valor óptimo de conveniencia se alcanzó al emplear el contenido óptimo de enzima Tg: 1,33 g a un tiempo de 44,9 minutos, así se obtiene un pan de molde a base a harina de quínoa en óptimas condiciones sensoriales. La formulación completa se presenta en la tabla 6.7.

Tabla 6.7 Formulación óptima del pan de molde en base a quínoa

Ingredientes	Cantidad por porción (g)	Porcentaje
Harina de quínoa	100	43,80
Cantidad de enzima	1,33	0,58
Levadura	3	1,31
Azúcar	2	0,88
Sal	2	0,88
Agua	120	52,56

6.4. Caracterización nutricional y fisicoquímica del producto optimizado

6.4.1. Caracterización Nutricional, Análisis Proximal

Se realizó un análisis proximal, para caracterizar la composición nutricional del pan a base de Harina de Quínoa y Enzima Tg, obtenido de la formulación previamente optimizada. Los resultados se presentan en la Tabla 6.8.

Tabla 6.8. Composición nutricional en 100 g de pan de molde elaborado con harina de Quínoa y Enzima Tg, y pan elaborado con harina de Trigo Integral

Componente	Pan Harina de Quínoa y enzima Tg /100 g	Pan Harina de Trigo Integral /100 g
Energía (Kcal)	237	242
Proteínas ($N \times 6,25$) (g)	11,9	9,4
Carbohidratos (g)	45,8	46,7
Materia Grasa (g)	0,7	2
Cenizas (g)	3,1	1,8
Humedad (g)	38,5	38,1

Al comparar el pan elaborado con productos similares como el pan elaborado con harina de Trigo Integral (elaborado en Molinera San Cristóbal), el aporte calórico del pan de quínoa es un poco menor, de acuerdo a lo señalado en la Tabla 6.8. Los datos mostrados concuerdan con lo esperado, ya que las variaciones nutricionales son atribuidas principalmente a las diferencias nutricionales de cada ingrediente principal (trigo y quínoa respectivamente). La composición nutricional de ambos ingredientes es similar, sobretodo en el caso de los carbohidratos y proteínas (Schmidt-Hebbel y col., 1992). En el caso de los lípidos, aunque la cantidad que ambos productos tienen es baja, se observa que el contenido es mayor en el pan con harina de trigo, lo que puede aumentar el contenido calórico del pan elaborado con harina de trigo integral por sobre el pan elaborado con harina de quínoa y enzima Tg.

Respecto a la introducción del producto a la dieta, la Tabla 6.9 presentada a continuación, muestra el aporte que una porción de producto (45 g, 2 rebanadas) da a la alimentación de un hombre adulto, según un valor diario de referencia de 2000 Kcal, de acuerdo a la Guía Diaria de Alimentación (GDA) de la iniciativa de la Confederación de Industrias de Alimentos y Bebidas de la Unión Europea (CIIA), recientemente adoptada por Chile (CCS, 2010; FIAB, 2007).

Tabla 6.9. Aporte nutricional de 45 g de producto respecto a la Guía Diaria de Alimentación (GDA) de la CIIA.

Componente	GDA	% Aportado por Porción (45 g)
Energía (kcal)	2000	5,3
Proteínas (g)	50	9,8
Hidratos de Carbono (g)	360	5,9
Grasas (g)	70	0,5

6.4.2. Caracterización Físicoquímica. Determinación de a_w y pH.

Para la caracterización físicoquímica se determinó la actividad de agua (a_w) y el pH de la muestra. El resultado es expuesto en la Tabla 6.10, a continuación.

Tabla 6.10. Resultado de análisis físicoquímicos del producto

Análisis	Valor
a_w	0,95 ± 0,1
pH	5,5

De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla 6.10, la actividad de agua (a_w) del producto elaborado, presenta un valor de 0,95, lo que indica que el alimento puede ser contaminado por la mayoría de las bacterias, levaduras, y hongos (Raso, 2011), por bacteria halófilas, levadura osmófila y *Salmonella*, entre otras (UNAM, 2011). Este

es un valor de actividad de agua considerada elevada y comparable a la que presentan alimentos como carne fresca, pescados y verduras (UNAM, 2011).

El pH del producto elaborado permite el crecimiento de tres tipos de microorganismos: bacterias, que se desarrollan a pH 5 – 9; levaduras que crecen a pH 1,5 – 8; y mohos que se presentan en el rango de pH 1,5 – 11 (Raso. 2011), aunque los valores documentados no son absolutos dado la complejidad de los alimentos. Este parámetro es importante dado que tiene gran influencia en el almacenamiento, por lo que debe ser controlado. Por la naturaleza del alimento se sugiere emplear plastificantes, como materia grasa, y conservantes que permitan prolongar la vida útil del alimento. (Raso. 2011)

6.5. Perfil Descriptivo

La Tabla 6.11 muestra un resumen de los resultados obtenidos del análisis de varianza para el test descriptivo del pan elaborado con harina de Quínoa y Enzima Tg y el pan elaborado con harina de Quínoa sin enzima.

Tabla 6.11. Resumen de los resultados de diferencias significativas para el test descriptivo entre muestras y jueces para cada parámetro evaluado.

Parámetro	Diferencias significativas entre Jueces	p- valor	Diferencias significativas entre Muestras	p- valor
Color corteza	No	0,1372	Si	0,0000
Color Miga	No	0,1779	Si	0,0071
Apariencia	No	0,2115	Si	0,0000
Aroma	No	0,7326	Si	0,0001
Flexibilidad (al juntar extremos del pan)	No	0,3070	Si	0,0000
Sabor	No	0,9588	Si	0,0005
Textura	No	0,3787	Si	0,0000

Se observa en la Tabla 6.11 que los resultados obtenidos en el test descriptivo son satisfactorios. No se encontraron diferencias significativas entre las evaluaciones de los jueces, lo que indica que el entrenamiento realizado y la selección de los jueces fueron adecuados. Relativo a las diferencias encontradas entre las muestras para cada parámetro, este resultado también es de esperarse puesto que ambos productos presentan diferentes características respecto a los atributos evaluados. El análisis de varianza y suma de cuadrados arrojados por el programa estadístico se encuentran el (Anexo 4).

La comparación del perfil de ambos productos se muestra en el Gráfico 6.5. Se observa que si bien, en la totalidad de los parámetros estudiados es posible encontrar diferencias estadísticamente significativas, existe como patrón, que el pan que si contenía enzima Tg presenta mayor intensidad en todos los parámetros evaluados a excepción del color de la corteza y el aroma.

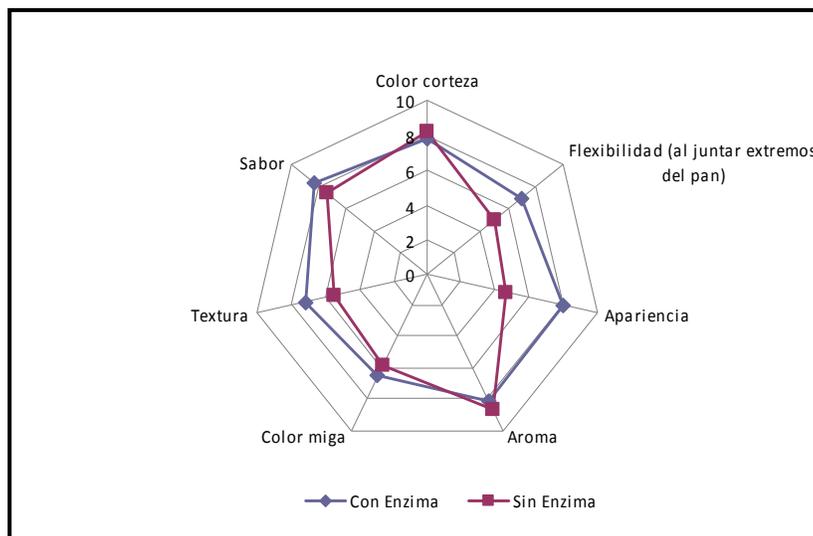


Gráfico 6.5. Gráfico radial. Perfil sensorial descriptivo del producto elaborado y comparación con el perfil de un producto elaborado también con harina de quínoa, pero que no contenía enzima Tg.

Fueron encontradas diferencias en la apariencia, flexibilidad (medida al juntar los extremos de los panes) y textura (medida en la boca de los panelistas) de ambos

productos, éstas se atribuyen a la adición de enzima Tg, que crea nuevos enlaces con los aminoácidos presentes en la harina de quínoa, formando una red que proporciona mayor soporte y flexibilidad al pan elaborado, con ésta (Collar y col, 2004).

6.6. Determinación de la Vida Útil

6.6.1 Determinación de vida útil mediante análisis sensorial de Karlsruhe

Los valores promedio de los parámetros Color de la Corteza, Color de la Miga, Forma, Olor, Textura y Calidad Total para las muestras se ilustran en los Gráficos 6.6, 6.7 y 6.8, para las muestras ensayadas los días 1, 2 y 3 respectivamente.

Se puede observar en las gráficas que el comportamiento de las respuestas es descendente a medida que avanzan los días de evaluación. Aunque no presentan un patrón ordenado de descenso, todos los parámetros, de los tres panes elaborados, evaluados disminuyen en el tiempo, en mayor o menor medida.

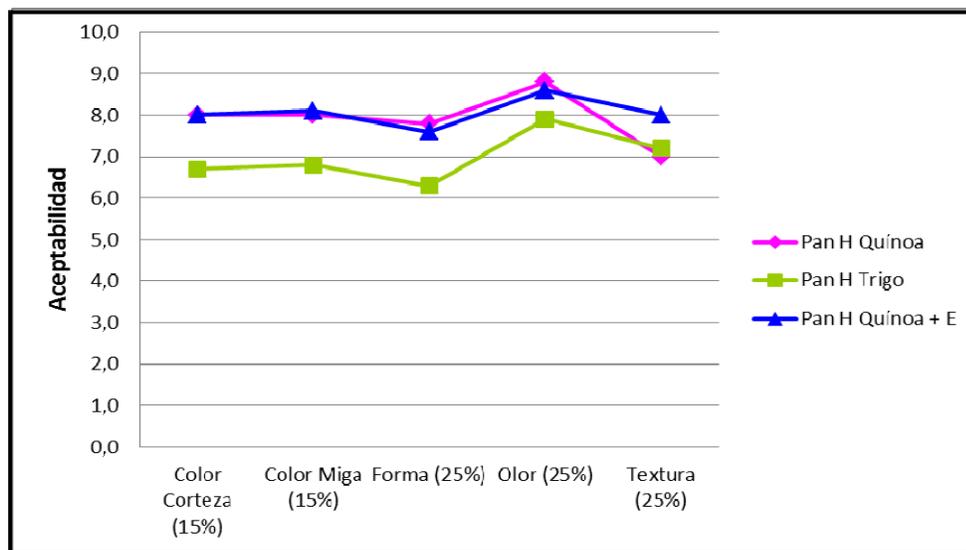


Gráfico 6.6. Primer día de evaluación de calidad, sensorial

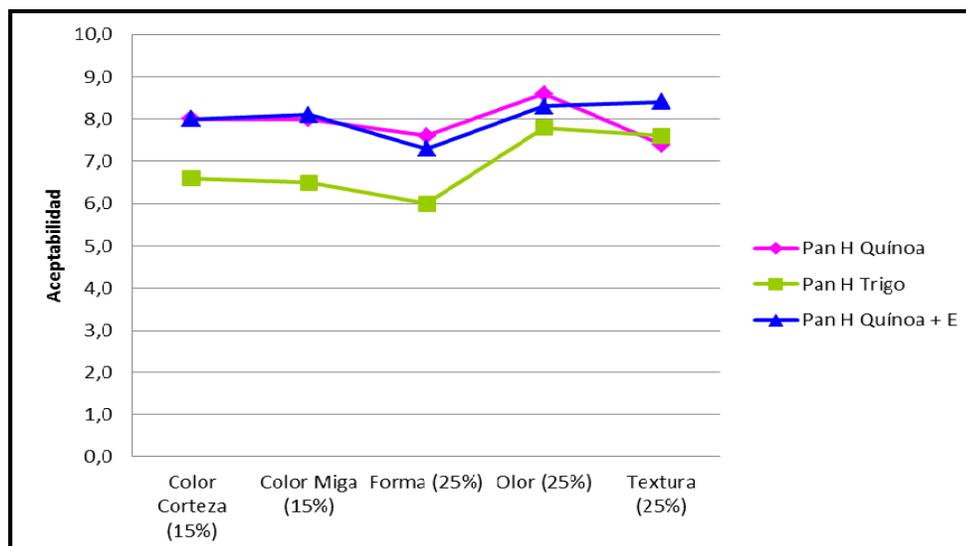


Gráfico 6.7. Segundo día de evaluación de calidad, sensorial

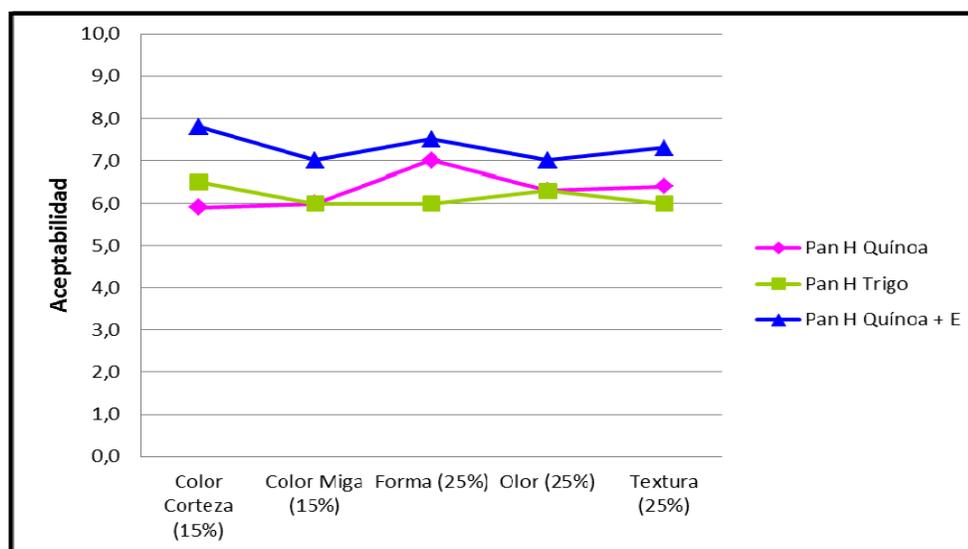


Gráfico 6.8. Tercer día de evaluación de calidad, sensorial

Se observa que el color tanto de la miga como de la corteza no presenta variaciones durante los dos primeros días, sin embargo, el tercer día se observa un descenso en la aceptabilidad del color de la miga de los tres panes evaluados; en el caso del color de la corteza, el mayor descenso lo presenta el pan elaborado únicamente con harina de quínoa.

En los parámetros forma, olor y textura se observa un descenso de la aceptabilidad, con el paso de los días.

Los promedios para el parámetro Calidad Total evaluados para cada muestra y por día, se ilustran en el gráfico 6.9

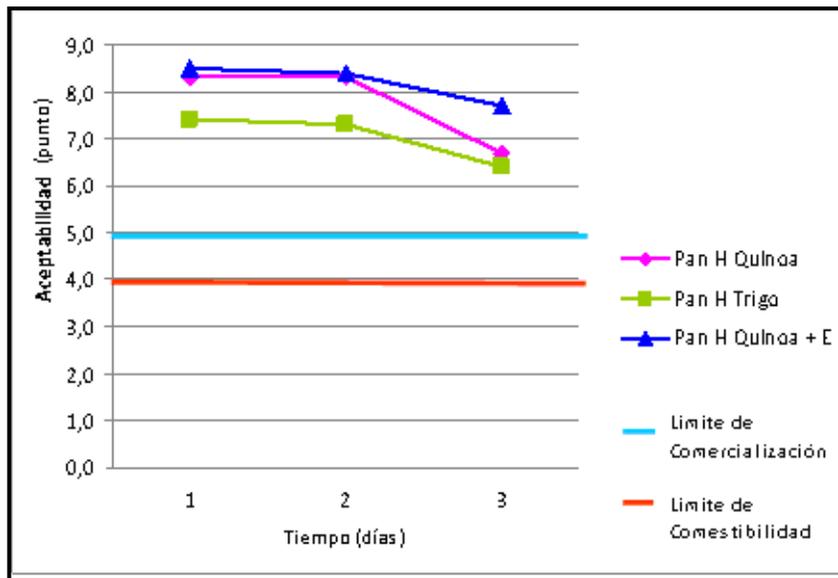


Gráfico 6.9. Calidad total

La evaluación de la calidad del producto se realizó durante los 3 días de vida útil que presentó el producto, es decir, hasta que se observó aparición de moho en el producto, situación que ocurrió en el día 4.

Se observa que la Calidad total del producto disminuyó durante los tres días de vida útil que presentó el producto a temperatura ambiente, sin embargo, nunca se presentó bajo el límite de comercialización, que se encuentra en el valor 5, ni tampoco bajo el límite de comestibilidad, ubicado en el valor 4.

Se observa que durante los dos primeros días de evaluación la calidad se encuentra en grado 1 para los 3 productos, es decir, fue evaluada por sobre los 7 puntos, aún cuando la calidad del día dos presenta una baja respecto al día 1. Los resultados señalan también que el día 3, los tres productos bajan su calidad respecto a los días

anteriores, a grado 2, excepto el pan elaborado con harina de quínoa y enzima Tg, que es el único que se mantiene en grado 1 durante los tres días de evaluación. El deterioro observado está dentro del comportamiento esperado, considerando la ausencia de conservantes en la formulación de las tres muestras evaluadas.

6.6.2. Determinación de la dureza del producto durante la vida útil, mediante análisis de textura.

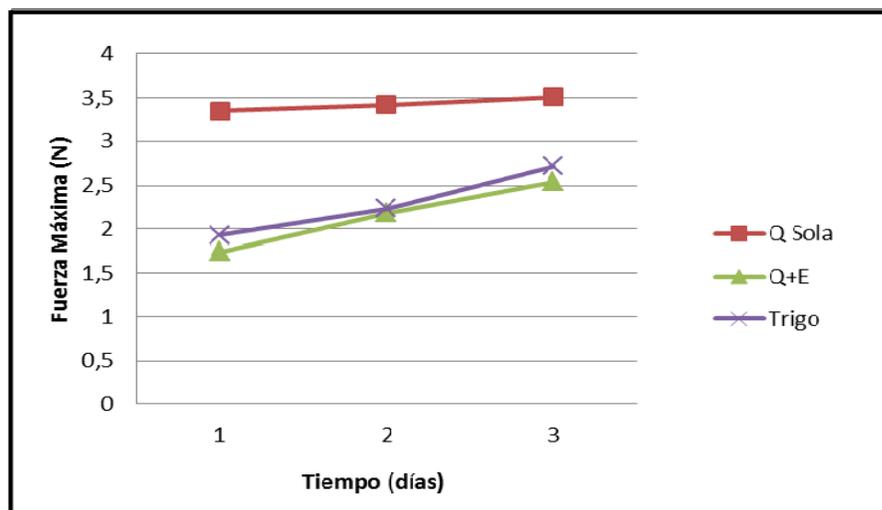


Gráfico 6.10.: Evaluación instrumental de la Dureza durante los 3 días de evaluación de vida útil

La dureza de los panes se evaluó también por vía instrumental. El día 1 se observa que la mayor dureza la presentó el pan elaborado únicamente con harina de quínoa, luego el pan elaborado con harina de trigo integral y finalmente el pan con harina de quínoa que contiene enzima Tg. Destacando que el pan elaborado únicamente con harina de quínoa presenta una dureza inicial que supera en aproximadamente un 75% a la que presentan las otras dos muestras. Esto se debe a que al no contener gluten el pan que se obtiene posee paredes gruesas que generan una estructura densa y compacta y por ende más dura (Lorenz 2006)

Se observa también que los tres tipos de pan tienden a endurecerse durante el tiempo de evaluación, sin embargo, el comportamiento de las tres muestras es diferente. La pendiente de la línea de tendencia del pan elaborado con harina de quínoa, sin enzima, es 0,08; muy inferior a las otras dos pendientes calculadas (Pan con harina de trigo integral: 0,38 y pan con harina de quínoa mas enzima Tg: 0,4), este comportamiento puede tener relación con la cantidad de amilosa presente en el almidón de cada cereal; ya que el trigo posee una mayor cantidad que la quínoa y la cantidad de amilosa es considerada el factor más influyente en la retrogradación del almidón; ya que un elevado contenido de amilosa da como resultado una gran asociación de moléculas de almidón y un alto grado de retrogradación (Lindeboom y col. 2005). Es por esto que la retrogradación del almidón y endurecimiento del pan elaborado con harina de quínoa y sin enzima es más lento. Se observa también que al adicionar enzima Tg el comportamiento del pan se asemeja al del pan de trigo integral, es decir, acelera el endurecimiento del pan, en comparación al elaborado con harina de quínoa que no contiene la enzima Tg, situación que concuerda con los estudios de Caballero y col que señalan que el envejecimiento del pan corriente, durante su almacenamiento, aumenta al adicionar enzima Tg (Caballero y col. 2007).

6.6.3. Correlación evaluación de Dureza vía sensorial y vía Instrumental

Tabla 6.12.: Correlación del valor de la Dureza obtenido por vía sensorial e instrumental

	Harina Quínoa		Harina Quinoa + enzima Tg		Harina Trigo Integral	
	Simple	Polinomial	Simple	Polinomial	Simple	Polinomial
Regresión						
Coefficiente de Correlación	- 0,6522	-	- 0,5827	-	- 0,890	-
R ²	42,54%	100%	33,96%	100%	65,46%	100%
Error estándar	0,5395	0	0,6398	0	0,6920	0
Orden	-	2	-	2	-	2
Durbin Watson	-	0	-	0	-	0

Las gráficas correspondientes a la correlación simple y polinomial de orden 2 se presentan en el Anexo 5.

Se observa que los tres tipos de panes elaborados poseen una correlación simple bajo 0,9; lo que se considera una correlación baja. Las tres gráficas presentan pendiente negativa y el error es sobre 0,5.

En el caso de la correlación polinomial de orden 2, se observa que ésta es perfecta para los tres productos evaluados; es decir, los tres modelos planteados, para cada tipo de pan elaborado, explican en un 100% la variabilidad de la Dureza evaluada sensorialmente, lo que se ve reforzado por el coeficiente Durbin Watson obtenido, inferior a 1,4. Esta alta correlación obtenida señala que los datos instrumentales reflejan las mediciones sensoriales (realizadas por los panelistas con los dedos), y por ende, indica que la textura sensorial se podría predecir mediante mediciones instrumentales de textura.

CAPITULO VII: CONCLUSIONES

A partir de la experiencia realizada se puede concluir que:

- La formulación óptima fue encontrada gracias al método de Superficie de Respuesta (MSR). Ésta fue caracterizada fisicoquímicamente, nutricionalmente y sensorialmente.
- Se observaron diferencias significativas entre las muestras que contenían enzima Tg (en cualquier grado) y las que no lo hacían, concluyéndose que la adición de enzima Tg modifica el comportamiento de la harina de quínoa en todas las formulaciones
- El producto presenta diferencias nutricionales con el producto más consumido actualmente en Chile, el pan de harina de trigo. El pan de harina de quínoa con enzima Tg posee un contenido proteico superior a casi todos los panes que se encuentran en el mercado chileno actual.
- El pan con harina de quínoa más enzima Tg fue preferido en la mayoría de los parámetros evaluados frente al pan elaborado con la misma harina pero sin enzima, a excepción del color de la corteza y el aroma.
- El tiempo de vida útil sensorial obtenido fue de 3 días a temperatura ambiente, para los tres panes elaborados.
- El pan elaborado con harina de quínoa y enzima Tg presentó el menor nivel de dureza al compararlo con el pan elaborado únicamente con harina de quínoa y el pan elaborado con harina de trigo integral.
- La correlación del valor Dureza, fue polinómica de segundo orden para los tres tipos de panes elaborados, con un ajuste del 100%.
- Se propone realizar mejoras al producto desarrollado, una de ellas es adicionar conservantes como propionato de calcio, ácido ascórbico y sorbato de potasio, que ya son empleados en la industria panadera, con el fin de extender el período de vida útil del producto.

- Como una segunda mejora se plantea realizar una formulación en la que se adicionen plastificantes como margarina o leche, con el fin de dar una textura más suave, se ayude a mejorar la retención de agua y se extienda la vida útil del producto.
- Finalmente se concluye que es posible elaborar pan con harina de quínoa al adicionar enzima Tg en la formulación, ya que ésta mejora sus propiedades reológicas, proporciona un mayor volumen a la estructura, y mejora sus características organolépticas.

CAPÍTULO VIII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUGOCH. L., CASTRO. E., TAPIA. C., AÑÓN. M., GAJARDO. P. Y VILLARROEL. A. (2009). Stability of quinoa flour proteins (*Chenopodium quinoa Willd.*) during storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(10):2013-2020.

AJINOMOTO FOOD INGREDIENTS. (11 de Junio de 2011). *Activa (R) General Information*. Recuperado el 11 de Junio de 2011, de Buyers Guide Activa (R): <http://buyersguide.foodproductdesign.com/media/54/library/FPDajinomoto5.pdf>

ALFONSO. D. Y BAZILE. D. (2009). La quínoa como parte de los sistemas agrícolas en Chile: 3 regiones y 3 sistemas. *Revista Geográfica de Valparaíso*, (42): 61-72.

ALIMENTARIA, C. P. (22 de Febrero de 2010). *Sólo México supera a Chile en consumo de pan en Latinoamérica*. Recuperado el 11 de Agosto de 2011, de Chile Potencia Alimentaria: <http://www.chilepotenciaalimentaria.cl/content/view/728115/Solo-Mexico-supera-a-Chile-en-consumo-de-pan-en-Latinoamerica.html>

A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists (1997). *Official Methods of Analysis* (16thEd.). Maryland, U.S.A.

ARAUJO-FARRO P., DO AMARAL SOBRAL J. Y MENEGALLI F. (2005). Comparison of starch pasting and retrogradation properties of Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*), rice, potato, cassava, wheat and corn starches. *2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering*, 1-6.

ARRIZUBIETA. M.J. (2007). Transglutaminases. En P. J. A., *Industrial Enzymes. Structure, Functions and Applications* (págs. 567-581). Valencia: Springer.

BAI. J., ZEBALLOS. E., FRIED. M., CORAZZA. G., SCHUPPAN. D., FARTHIN. M. CATASSI. C., GRECO. L., COHEN. H. Y KRABSHUIS. J. (11 de Junio de 2011). *World Gastroenterology Organization Practice Guidelines. Enfermedad Celíaca*. Recuperado el 11 de Junio de 2011, de COACEL Corporación de apoyo al celíaco: http://www.coacel.cl/images/faq/enfermedad_celiaca.pdf

BHARGAVA. A., SHULKA. S. Y OHRI. D. (2006). *Chenopodium quinoa*. An Indian perspective. *Industrial Crops and Products*, 23 (1): 73-87.

BRODY, A.L. (2003). Predicting Packaged Food Shelf Life. *Food Technology*. 57 (4): 100-102.

CABALLERO P., G. M. (2007). Improvement of dough rheology, bread quality and bread shelf-life by enzymes combination. *Journal of Food Engineering* , 81 (1): 42 - 53.

CASP, A. Y APRIL, J. (1999). *Procesos de Conservación de Alimentos*. Madrid: Mundi-Prensa.

CASTRO. E. (1999). *Textura de Alimentos*. Recuperado el 11 de Junio de 2011, de Biblioteca Digital Universidad de Chile:
http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/castroe09/

CASTRO E. (2010). *Harina y aceite de quínoa (Quenopodium quinoa Willd.) de la región VI*. Recuperado el 12 de Agosto de 2011, de CAPTURA Repositorio Académico de la Universidad de Chile:
http://captura.uchile.cl/jspui/bitstream/2250/12008/1/Harina_y_aceite_de_Quinoa%5B1%5D.pdf

COACEL. (2009). *Celíacos en Chile*. Recuperado el 12 de Agosto de 2011, de COACEL Corporación de apoyo al celiaco:
http://www.coacel.cl/articulos_interes_2.html

COLLAR. C. y BOLLAÍN. C. (2004). Impact of microbial transglutaminase on the viscoelastic profile of formulated bread doughs. *European Food Research and Technology* , 218 (2): 139-146.

COZZOLINO. A., DI PIERRO. P., MARINIELLO. L., SORRENTINO A., MASI. P. Y PORTA. R. (2003). Incorporation of whey proteins into cheese curd by using transglutaminase. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 38 (3): 289-295.

FAERGEMAND. M. Y QVIST. K.B. (1997). Transglutaminase: effect on rheological properties, microstructure and permeability of set style acid. *Food Hydrocolloids*, 11 (3): 287-292.

FERNÁNDEZ, C. Y PIÑEIRO, M. (2001). *Superficies de Respuesta. Métodos y Diseños*. Universitaria.

FINNEY. K.F. (1984). An Optimized, Straight-Dough, Bread-Making Method After 44 Years. *Cereal Chemistry*, 61 (1): 20-27.

GANDARILLAS. H. (1979). Botánica. En G. H. TAPIA. M., *La Quinoa y la Kañiwa. Cultivos Andinos* (págs. 20-33). Bogotá: Editorial IICA.

HOSENEY. R.C. (1992). Physical Chemistry of Bread Dough. En S. H. R., *Physical Chemistry of Foods (IFTBasic Symposium)* (págs. 443-457). Marcel Dekker Inc.

JOZAMI. F. Y SESEHOUSKY. R. (2003). Usos de la Transglutaminasa en la industria alimentaria. Elaboración de carne reconstituida. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe. España y Portugal*, 6 (10): 157-164.

KONISHI. Y., ARNAO SALAS. I. Y CALIXTO. M. (2006). Caracterización del Almidon de Amaranthus caudatus por barrido calorimétrico diferencial. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 72 (1): 12-18.

KOVÁCS. E. (2004). Use transglutaminase for developing pasta structure in pseudo-cereals systems. *3rd International Symposium on Food Rheology and Structure*, 498-503.

LINDEBOOM N., C. P. (2005). Characteristics of Starch from Eight Quinoa Lines. *Cereal Chemistry*, (82): 216 - 222.

LÓPEZ A., G. M.-M. (2004). *Biotecnología alimentaria*. México DF: Editorial Limusa S.A. de C.V.

LORENZ. K. Y COULTER. L. (1991). Quinoa flour in baked products. *Plants Foods for Human Nutrition*, 41 (3): 213-223.

MAN, C. Y JONES, A. (1994). *Shelf Life Evaluation of Foods*. Londres: Chapman & Hall.

MOORE M., HEINBOCKEL M. DOCKERY P., ULMER H., Y ARENDT E. (2006). Network Formation in Gluten-Free Bread with Application of Transglutaminase. *American Association of Cereal Chemists*, 83 (1): 28-36.

MORALES. I. (2009). *Vida Útil de alimentos*. Recuperado el 19 de Junio de 2011, de Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica.: <http://www.cita.ucr.ac.cr/Alimentica/EdicionesAnteriores/Volumen%206,2009/Articulo/Vida%20Util.pdf>

RANHOTRA. G, GELROTH. J., GLASER. B., LORENZ. K. Y JOHNSON.D. (1993). Composition and Protein Nutritional Quality of Quinoa. *Cereal Chemistry*, 70 (3): 303-305.

RASO J. (2011). *Microbiología Industrial Alimentaria*. Recuperado el 10 de Agosto de 2011, de Departamento Bioquímica y Biología UNIZAR:

http://www.unizar.es/departamentos/bioquimica_biologia/docencia/ByMInd/de%20javier%20Raso/MICROBIOLOGIA%20INDUSTRIAL%20Alimentaria.pdf

RENZETTI. S., DAL BELLO. F. Y ARENDT. E. (2008). Microstructure, fundamental rheology and baking characteristics of batters and breads from different gluten free flours treated with a microbial transglutaminase. *Journal of Cereal Science* , 48 (1): 33-45.

RODRÍGUEZ, M. (14 de Enero de 2011). Test de calidad de pan de molde en empresa Breden Master. (P. Vergara, Entrevistador)

ROSELL C., CORTEZ G. Y REPO-CARRASCO R. (2009). Breadmaking Use of Andean Crops Quinoa, Kañiwa, Kiwicha, and Tarwi. *American Association of Cereal Chemists* , 86 (4): 386-392.

ROSSI. M. (05 de 12 de 2010). *Can people with celiac disease eat products containing TG?* Recuperado el 25 de 07 de 2011, de Eat Well, Live Well Ajinomoto: <http://www.transglutaminase.com/news/can-people-with-celiac-disease-eat-products-containing-tg>

SCHMIDT-HEBBEL H., PENNACCHIOTTI I., MASSON L., MELLA M. (1992). *Tabla de Composición Química de Alimentos Chilenos.* Recuperado el 09 de Agosto de 2011, de Biblioteca Digital Universidad de Chile: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/schmidt_h03/index.html

SISSONS. M., ARAVIND. N. Y FELLOWS. C. (2010). Quality of Fiber-Enriched Spaghetti Containing Microbial Transglutaminase. *Cereal Chemistry* , 87 (1): 57-64.

STEFFE. J. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering.* Michigan: Freeman Press.

TÖMÖSKÖZI S., GYENG L., PELC A., ABONYI T., SCHÖLNLECHNER R. Y LÁSZTITY R. (2011). Effects of Flour and Protein Preparations from Amaranth and Quinoa Seeds on the Rheological Properties of Wheat-Flour Dough and Bread Crumb. *Czech Journal of Food Sciences (CJFS)* , 29 (2): 109-116.

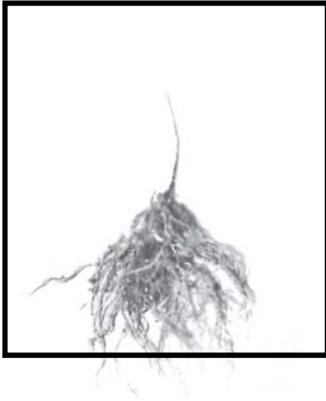
UNAM. (2011). *Administración de Manuales y Documentos Universidad Nacional Autónoma de México.* Recuperado el 11 de Agosto de 2011, de Distribución del Agua en los Alimentos: http://depa.pquim.unam.mx/amyd/archivero/AwBadui_3608.pdf

WITHAM, F., BLYDES, D. y DEVLIN, R. (1971). "Experiment Implant Physiology". Van Nostrand, Reinhold Company. New York, E.E.U.U., p. 16-18.

WITTIG, E. (2001). *Evaluación Sensorial*. Santiago: Biblioteca Digital. Universidad de Chile.

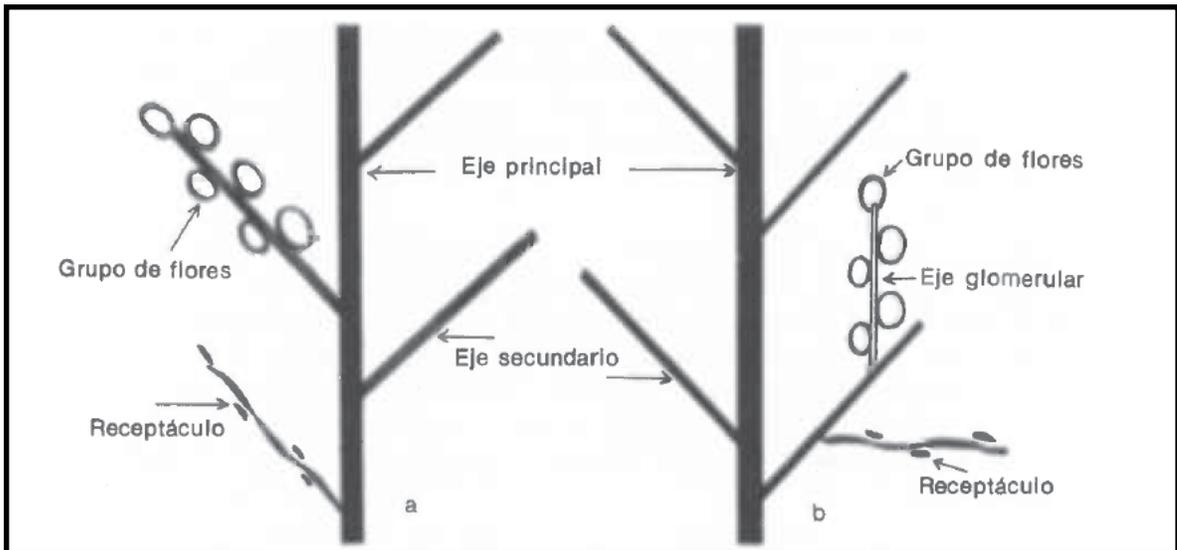
CAPÍTULO IX: ANEXOS

Anexo 1.



Raíz de Quínoa (Gandarillas, 1979).

Anexo 2.



La figura muestra un esquema de los dos tipos de ejes. El esquema a. es el eje Amarantiforme y el eje b. muestra el tipo glomerular (Gandarillas, 1979).

Anexo 3.

A continuación se presentan los diagramas de Pareto y las gráficas de las Superficies de Respuesta de los parámetros evaluados por vía sensorial para la optimización de la formulación de pan a base de harina de quínoa + enzima Tg.

Gráfico de Pareto y Superficie de respuesta para Apariencia

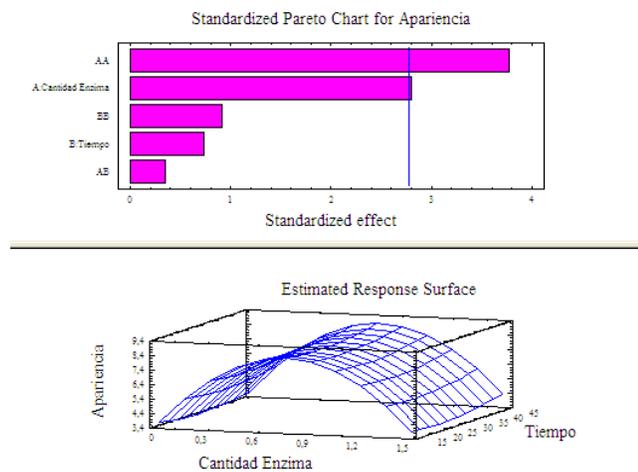


Gráfico de Pareto y Superficie de respuesta para Aroma

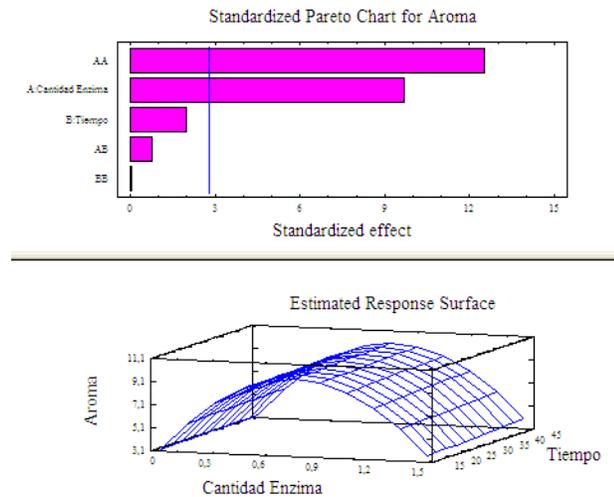


Gráfico de Pareto y Superficie de respuesta para Esponjosidad de la miga

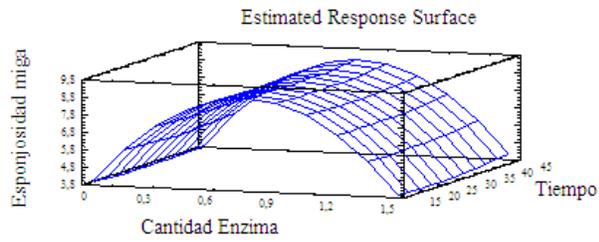
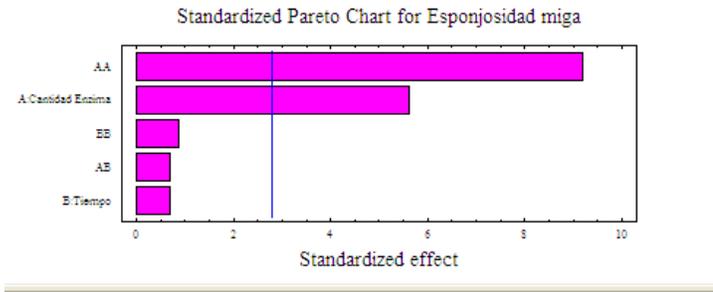


Gráfico de Pareto y Superficie de respuesta para Resistencia a la primera mordida

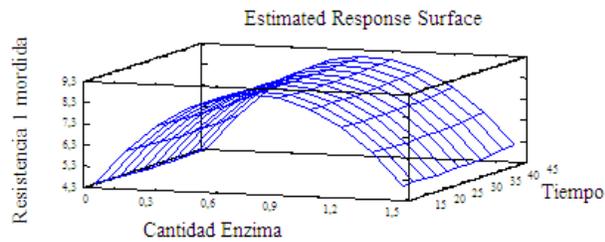
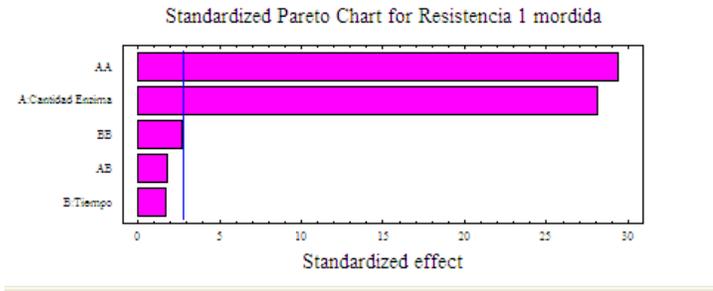


Gráfico de Pareto y Superficie de respuesta para Resistencia a la segunda mordida

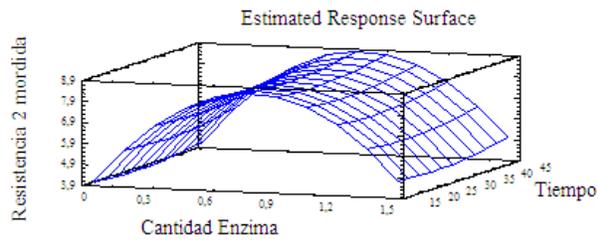
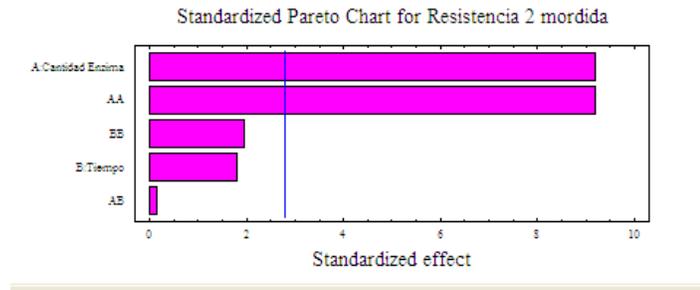


Gráfico de Pareto y Superficie de respuesta para Sabor

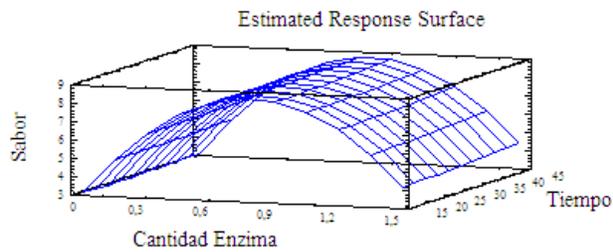
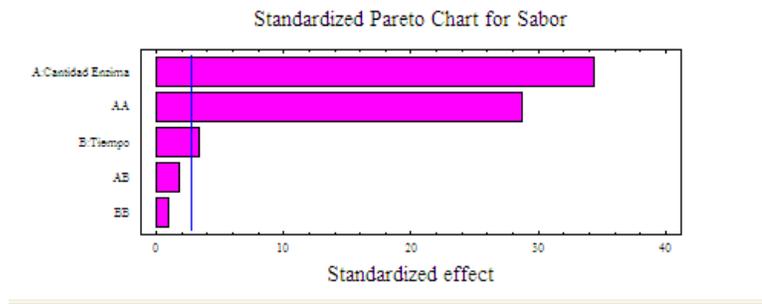
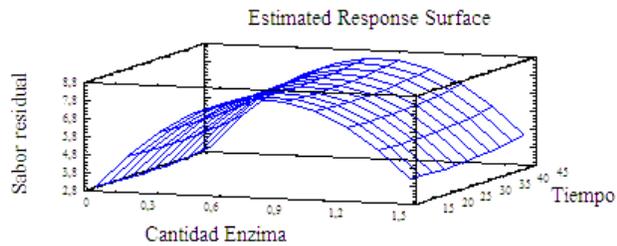
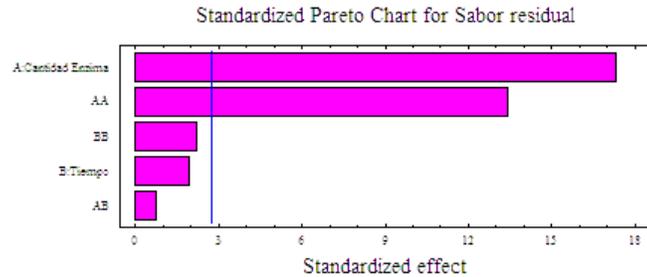


Gráfico de Pareto y Superficie de respuesta para Sabor residual



Anexo 4.

Análisis de varianza y suma de cuadrados para parámetros evaluados en la elaboración del perfil sensorial descriptivo del producto elaborado

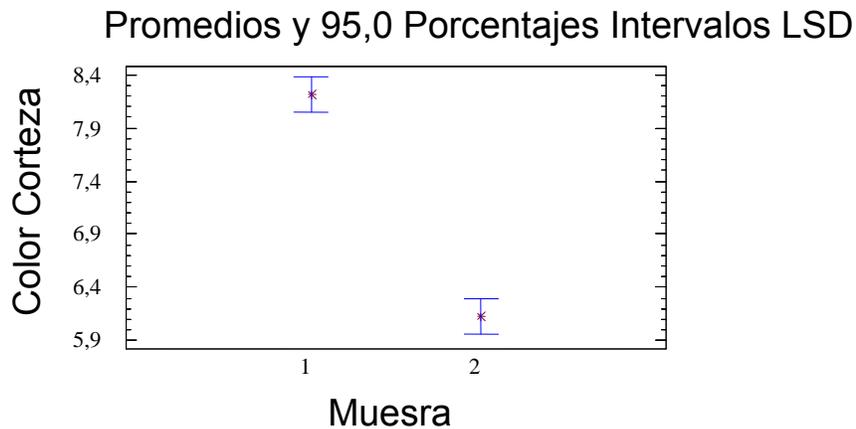
Análisis de Varianza para Color Corteza - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Juez	1,36938	7	0,195625	2,38	0,1372
B: Muestra	17,4306	1	17,4306	212,43	0,0000
RESIDUOS	0,574375	7	0,0820536		
TOTAL (CORREGIDO)	19,3744	15			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de Color Corteza en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Color Corteza con un 95,0% de nivel de confianza.



Análisis de Varianza para Flexibilidad - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Juez	3,43	7	0,49	1,49	0,3070
B:Muestra	37,8225	1	37,8225	114,74	0,0000
RESIDUOS	2,3075	7	0,329643		
TOTAL (CORREGIDO)	43,56	15			

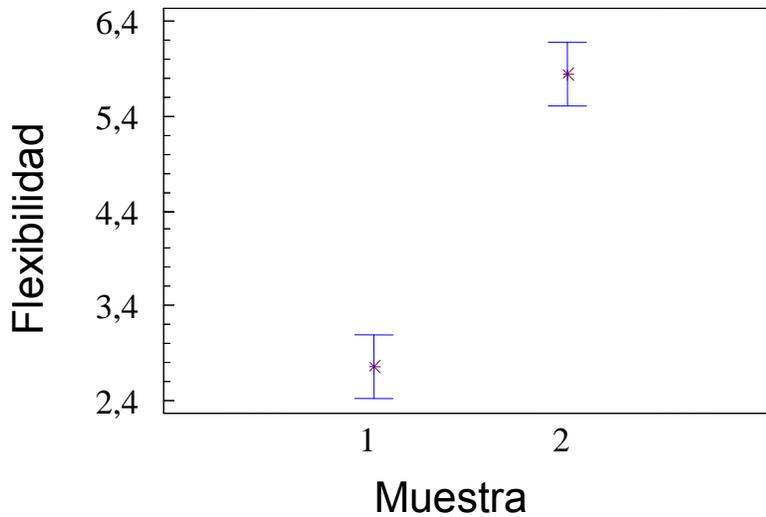
Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de Flexibilidad en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores.

factores. Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Flexibilidad con un 95,0% de nivel de confianza.

Promedios y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Análisis de Varianza para Apariencia - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Juez	0,24	7	0,0342857	1,88	0,2115
B:Muestra	91,2025	1	91,2025	5007,20	0,0000
RESIDUOS	0,1275	7	0,0182143		
TOTAL (CORREGIDO)	91,57	15			

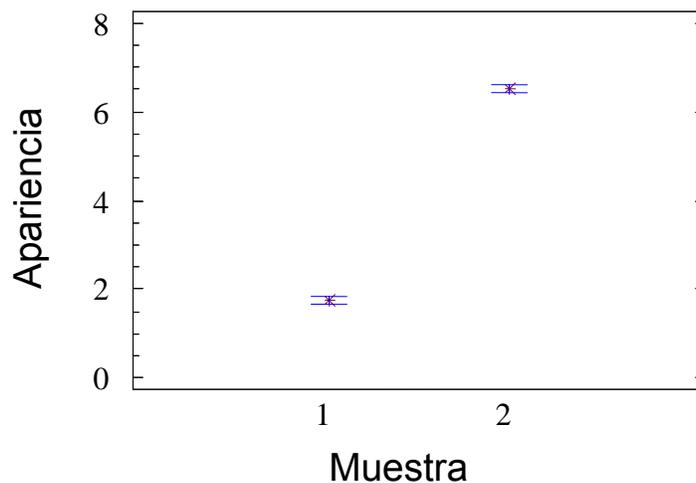
Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de Apariencia en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás

factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Apariencia con un 95,0% de nivel de confianza.

Promedios y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Análisis de Varianza para Aroma - Suma de Cuadrados Tipo III

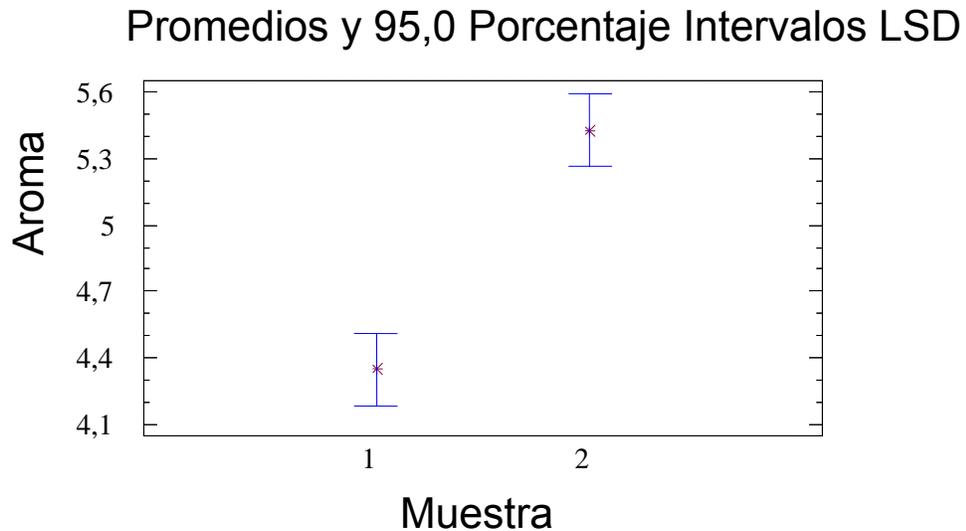
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Juez	0,3175	7	0,0453571	0,61	0,7326
B:Muestra	4,6225	1	4,6225	62,53	0,0001
RESIDUOS	0,5175	7	0,0739286		
TOTAL (CORREGIDO)	5,4575	15			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de Aroma en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los

factores. Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Aroma con un 95,0% de nivel de confianza.



Análisis de Varianza para Color Miga- Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Juez	25,4694	7	3,63848	2,08	0,1779
B:Muestra	24,7506	1	24,7506	14,13	0,0071
RESIDUOS	12,2644	7	1,75205		
TOTAL (CORREGIDO)	62,4844	15			

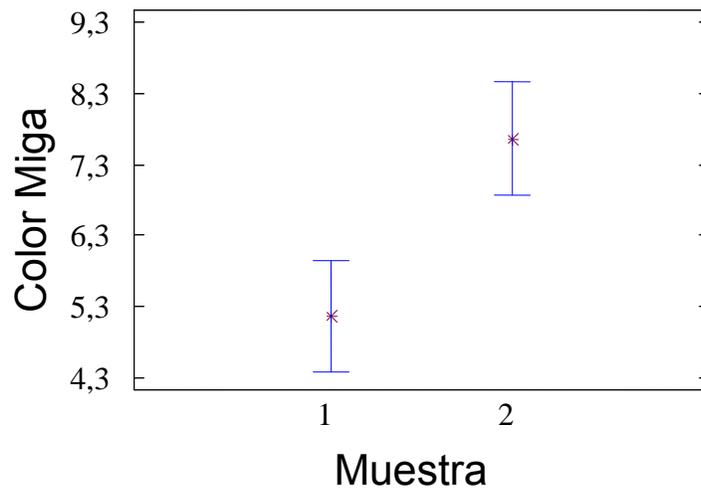
Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de Color Miga en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por

omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Color Miga con un 95,0% de nivel de confianza.

Promedios y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Análisis de Varianza para Textura - Suma de Cuadrados Tipo III

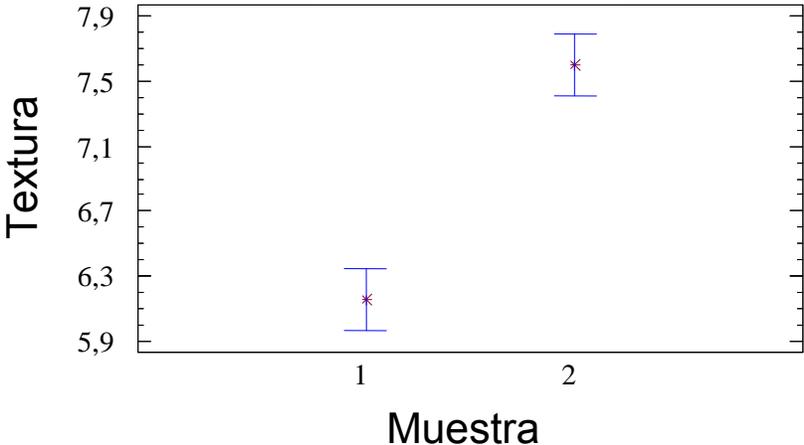
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Juez	0,929375	7	0,132768	1,27	0,3787
B:Muestra	8,26562	1	8,26562	79,33	0,0000
RESIDUOS	0,729375	7	0,104196		
TOTAL (CORREGIDO)	9,92437	15			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de Textura en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Textura con un 95,0% de nivel de confianza.

Promedios y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Análisis de Varianza para Sabor - Suma de Cuadrados Tipo III

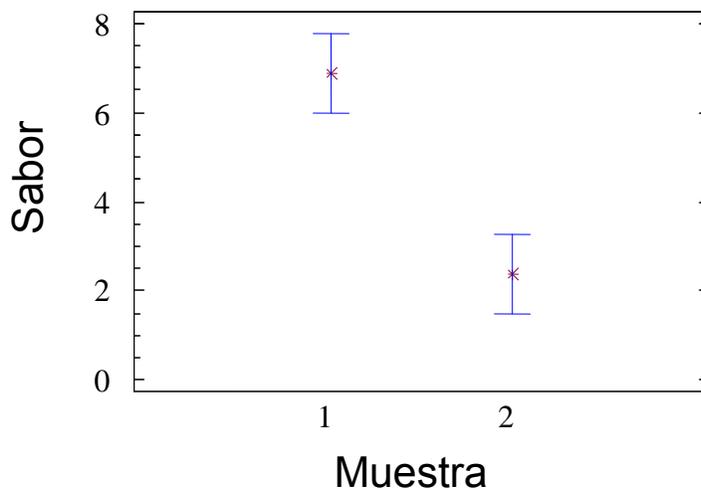
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Juez	3,80938	7	0,544196	0,24	0,9588
B:Muestra	81,4506	1	81,4506	36,49	0,0005
RESIDUOS	15,6244	7	2,23205		
TOTAL (CORREGIDO)	100,884	15			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de Sabor en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Sabor con un 95,0% de nivel de confianza.

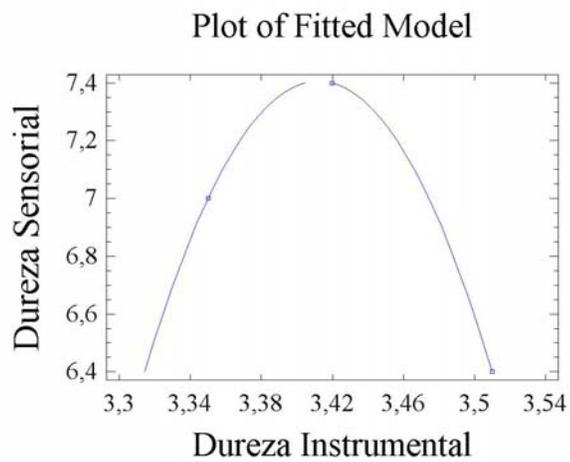
Promedios y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



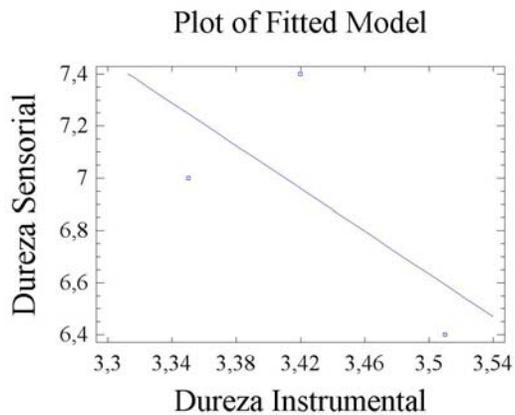
Anexo 5

Gráficas de correlación para pan elaborado con Harina de Quínoa sin enzina Tg.

Gráfica de correlación polinomial de segundo orden entre la dureza evaluada por vía sensorial y la dureza evaluada por vía instrumental.

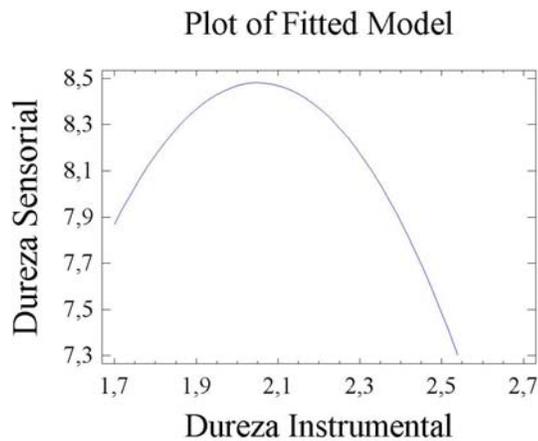


Gráfica de correlación lineal entre la dureza evaluada por vía sensorial y la dureza evaluada por vía instrumental.

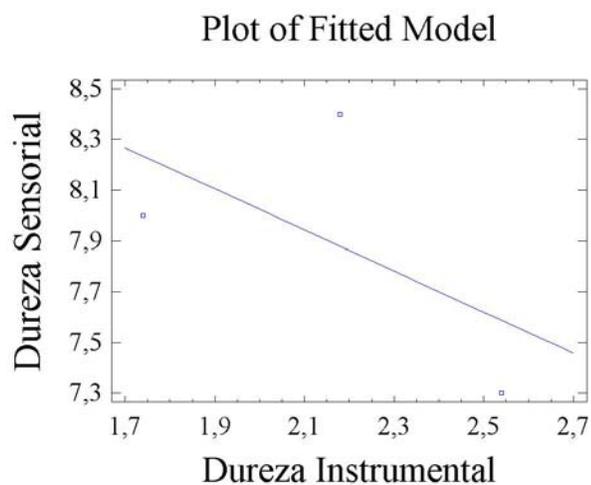


Gráficas de correlación para pan elaborado con Harina de Quínoa y enzina Tg.

Gráfica de correlación polinomial de segundo orden entre la dureza evaluada por vía sensorial y la dureza evaluada por vía instrumental.

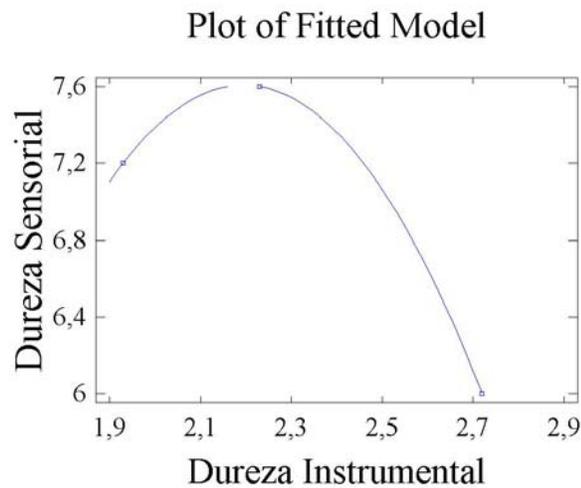


Gráfica de correlación lineal entre la dureza evaluada por vía sensorial y la dureza evaluada por vía instrumental.



Gráficas de correlación para pan elaborado con Harina Trigo integral.

Gráfica de correlación polinomial de segundo orden entre la dureza evaluada por vía sensorial y la dureza evaluada por vía instrumental.



Gráfica de correlación lineal entre la dureza evaluada por vía sensorial y la dureza evaluada por vía instrumental.

