



**Universidad de Chile**

**Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas**

**Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química**

**Ingeniería en Alimentos**

A handwritten signature in blue ink that reads "A Bungler". The signature is written in a cursive style and is underlined with a single horizontal line.

**PATROCINANTE**

**Andrea Bungler**

Departamento de Ciencia de los  
Alimentos y Tecnología Química  
Universidad de Chile.

**DIRECTORES DE MEMORIA**

**Andrea Bungler**

Departamento de Ciencia de los  
Alimentos y Tecnología Química  
Universidad de Chile.

**Hernán Tapia**

Ingeniero en Alimentos  
Departamento de Desarrollo  
BredenMaster

**Efecto de las enzimas Amilasa Maltogénica y Xilanasa en vida útil  
de pan marraqueta precocido congelado en condición de  
almacenamiento refrigerado**

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO EN ALIMENTOS

**MAURICIO ALEJANDRO PÉREZ GALAZ**

Santiago - Chile

Junio, 2022

“Y donde sea que hayas ido, y adonde sea que quizás vayamos...  
Tu luz reflejada ahora, reflejada desde lo lejos.  
Éramos simplemente piedras. Tu luz nos convirtió en estrellas.”

## **Agradecimientos**

A Carolina, mi amor y soporte en todo proceso y paso que he dado. Gracias por estar siempre ahí como mi compañera de vida y mi partner. Este ciclo no hubiera sido posible sin el apoyo y fuerza que me has entregado abnegadamente para avanzar en cada desafío que se ha presentado.

A mi familia, mi mamá y hermano que siempre han estado ahí. Fueron, son y serán uno de mis pilares fundamentales. Gracias por la crianza y apoyo incondicional desde siempre. Este cierre de ciclo también es mérito de ustedes. También a quienes se han unido como mi familia, mis suegros Jessica y Patricio y mi cuñado Andrés, gracias por estar también ahí presentes y hacerme sentir como uno más de su familia.

A Hernán, Alejandra y Peter, mis guías y mentores en mi formación profesional. Muchas gracias por estar siempre para darme una palabra de aliento y tener su confianza en estos años. Han sido muy importantes en mi desarrollo personal y profesional.

A mi profesora Andrea, que siempre ha estado para apoyarme en este proceso académico y en aguantarme todos estos años que me ha tomado poder cerrar el proceso, gracias por su paciencia y entrega.

A mis amigos de toda la vida y quienes fueron siendo parte de ella durante mi formación, por estar ahí con una palabra de aliento en todo el proceso.

También le agradezco a ellos que ya no están físicamente, pero que estoy convencido que caminan a mi lado para protegerme y alentarme a tomar cada desafío. Este cierre de ciclo también es para ellos.

## Tabla de Contenidos

Índice de Tablas .....	vii
Índice de Figuras .....	viii
Resumen.....	ix
1.Introducción.....	1
2.Marco Teórico.....	2
2.1.    Conceptos Generales .....	2
2.2.    Consumo de pan en Chile .....	2
2.3.    Materias Primas en la elaboración de pan .....	2
2.3.1.    Harina.....	2
2.3.2.    Agua.....	3
2.3.3.    Sal .....	4
2.3.4.    Levadura .....	4
2.3.5.    Mejoradores .....	4
2.3.6.    Azúcar .....	5
2.4.    Pan precocido congelado .....	5
2.5.    Etapas de elaboración de pan marraqueta precocido congelado.....	6
2.5.1.    Amasado .....	7
2.5.2.    División y Formación .....	7
2.5.3.    Fermentación.....	7
2.5.4.    Primer Horneo .....	8
2.5.5.    Enfriado .....	9
2.5.6.    Congelado .....	9
2.5.7.    Envasado y distribución.....	10
2.5.8.    Horneo Final .....	10
2.6.    Envejecimiento del pan.....	11
2.6.1.    El almidón.....	11
2.6.2.    La retrogradación del almidón .....	12
2.7.    Vida útil del pan marraqueta .....	14
2.8.    Uso de enzimas en panadería .....	15
2.9.    Antecedentes de las enzimas xilanasas y amilasa maltogénica .....	17
2.9.1.    Xilanasas.....	17

2.9.2. Amilasa maltogénica.....	18
2.10. Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) .....	19
2.11. Análisis de Textura Instrumental.....	19
2.12. Determinación de Actividad de agua .....	21
2.13. Determinación de vida útil.....	22
3. Hipótesis .....	23
4. Objetivos.....	23
4.1. Objetivo General.....	23
4.2. Objetivos Específicos .....	23
5. Materiales y Equipos .....	24
5.1. Materiales.....	24
5.2. Equipos .....	24
6. Metodología.....	25
6.1. Diseño experimental.....	25
6.1.1. Respuestas del diseño experimental .....	26
6.2. Plan de muestreo .....	27
6.3. Elaboración de muestras .....	28
6.4. Preparación de muestras para análisis.....	29
6.5. Controles realizados durante la panificación.....	29
6.5.1. pH.....	29
6.5.2. Temperatura.....	30
6.6. Controles realizados durante el almacenamiento refrigerado .....	30
6.6.1. Análisis microbiológico .....	30
6.6.2. Determinación de Actividad de agua .....	30
6.6.3. Medición de pH en producto terminado .....	30
6.7. Análisis Estadístico.....	31
7. Resultados.....	32
7.1. Controles realizados durante la panificación.....	32
7.1.1. pH.....	32
7.1.2. Temperatura.....	32
7.2. Controles durante el almacenamiento refrigerado .....	33
7.2.1. Análisis microbiológico .....	33
7.2.2. Análisis de Actividad de agua (aw) .....	34

7.2.3. Control de pH .....	35
7.3. Resultados del Diseño Experimental .....	35
7.3.1. Evaluación Diseño Experimental .....	35
7.3.2. Análisis individual de Respuestas.....	37
8Conclusiones.....	46
9. Referencias .....	47
10. Anexos.....	53

## Índice de Tablas

Tabla 1 Listado Equipo empleados en la elaboración y control de muestras .....	24
Tabla 2 Variables codificadas y decodificadas de ensayos .....	25
Tabla 3 Plan de muestreo de estudio.....	28
Tabla 4 Respuestas de Diseño experimental.....	35

## Índice de Figuras

Figura 1. Diagrama de proceso de marraqueta precocida congelada .....	6
Figura 2. Reacciones del proceso de fermentación panaria.....	8
Figura 3 Regiones amorfas y cristalinas del almidón .....	11
Figura 4 Representaciones de componentes del almidón.....	12
Figura 5 Etapas de transformación de almidón.....	13
Figura 6 Estructura de un xilano .....	17
Figura 7 Esquema de la curva esfuerzo de compresión v/s deformación.....	20
Figura 8 Control de temperatura de masas durante el proceso.....	32
Figura 9 Evolución de Actividad de agua (aw) en pan marraqueta.....	34
Figura 10 Diagramas de Pareto para respuestas de diseño experimental .....	36
Figura 11 Firmeza de miga analizada .....	38
Figura 12 Elasticidad de miga instrumental.....	40
Figura 13 Evolución de la cohesividad de miga .....	41
Figura 14 Promedio evaluación sensorial para Atributo Apariencia.....	43
Figura 15 Promedio evaluación sensorial para Atributo Textura .....	44

## Resumen

Chile es uno de los principales consumidores de pan en el mundo con un consumo per cápita cercano a 90 kilos por año, y el pan precocido congelado surge como una opción para mantener la disponibilidad de producto en el tiempo. Sin embargo, por el costo de la tecnología, muchos puntos de venta almacenan el pan en refrigeración, condición propicia para acelerar el deterioro sensorial del pan, provocado por la retrogradación del almidón, afectando en la calidad y aumentando las mermas. El objetivo del estudio fue evaluar el desempeño del pan marraqueta precocido congelado almacenado en condiciones de refrigeración, con aplicación de enzimas xilanasas y amilasa maltogénica. Se realizó un diseño experimental factorial  $2^2$  con 3 puntos centrales y concentraciones de xilanasas de 0 a 7,25 g/100kg de harina y concentraciones de amilasa maltogénica 0 a 290 g/100kg de harina como factores. Se analizaron las respuestas texturales instrumentales, controles al producto terminado y evaluación sensorial con un panel entrenado durante 10 días de almacenamiento refrigerado. Todos los ensayos con adición de enzimas tuvieron menor daño mecánico que el ensayo sin enzimas. Al día 10 del estudio, el ensayo con mayor cantidad de amilasa maltogénica y xilanasas terminó con menor firmeza de miga con 120,8 gF., sobre los 216,5 gF del ensayo al que no se le adicionó enzimas; también culminó con mayor elasticidad (0,958) y cohesividad (0,765). En la evaluación sensorial, tuvo mejor desempeño para los atributos de apariencia y textura de miga. Por lo tanto, la adición de enzimas amilasa maltogénica y xilanasas tiene un impacto positivo en la calidad del pan marraqueta almacenado en refrigeración, disminuyendo la velocidad de retrogradación del almidón luego de 10 días.

## **Effect of the enzymes maltogenic amylase and xylanase on shelf life of frozen precooked marraqueta bread under refrigerated storage condition**

Chile is one of the main consumers of bread in the world with a per capita consumption close to 90 kilos per year, and frozen pre-baked bread emerges as an option to maintain product availability over time. However, due to the cost of the technology, many points of sale store the bread in refrigeration, a favorable condition to accelerate the sensory deterioration of the bread, caused by the retrogradation of the starch, affecting quality and increasing waste. The objective of the study was to evaluate the performance of frozen precooked marraqueta bread stored under refrigeration conditions, with the application of xylanase and maltogenic amylase enzymes. A 2<sup>2</sup> factorial experimental design was carried out with 3 central points and xylanase concentrations of 0 to 7.25 g / 100kg of flour and maltogenic amylase concentrations of 0 to 290 g / 100kg of flour as factors. The instrumental textural responses, controls of the finished product and sensory evaluation with a trained panel were analyzed during 10 days under refrigerated storage. All assays with addition of enzymes had less mechanical damage than the assay without enzymes. On day 10 of the study, the trial with the highest amount of combined maltogenic amylase and xylanase ended with lower crumb firmness with 120.8 gF over the 216.5 gF of the trial to which enzymes were not added; it also ended with higher elasticity (0.958) and cohesiveness (0.765). In the sensory evaluation, it performed better for the appearance and crumb texture attributes. Therefore, the addition of maltogenic amylase and xylanase enzymes has a positive impact on the quality of marraqueta bread stored in refrigeration, reducing the rate of starch retrogradation after 10 days.

## 1. Introducción

El pan es uno de los más antiguos y principales alimentos del mundo y dada la disminución de fuentes de alimentación, buscar mecanismos de preservación juega un importante rol en reducir las pérdidas de alimentos (Noshirvani, 2017).

El fenómeno del endurecimiento del pan es responsable de importantes pérdidas económicas, tanto para la industria como para los consumidores. Hace referencia a la pérdida de calidad en sabor y textura del pan, siendo un complejo fenómeno en el cual ocurren múltiples fenómenos (Giménez, 2007).

El uso de algunas enzimas en la industria de productos de panificación se relaciona con la posibilidad de retardar este fenómeno y extender así, la calidad sensorial del pan a través de su vida útil (Giménez, 2007). Normalmente, la vida útil del pan sin algún tipo de métodos de preservación es de 3 a 4 días (Noshirvani, 2017).

Las enzimas más usadas para reducir la tasa de endurecimiento son amilasas, las cuales catalizan una pequeña cantidad de hidrólisis de almidón, manteniendo la frescura del pan por un largo período de tiempo (Giménez, 2007). En la actualidad, las amilasas maltogénicas pueden provenir de diversas fuentes, como animales, plantas y microorganismos *Bacillus subtilis*, *Bacillus stearothermophilus* y *Bacillus licheniforme*, lo que proporcionan bastante comodidad para su aplicación (Ruan, 2021). Además de amilasas, existen otras enzimas que aportan en la calidad del pan y actúan sobre su endurecimiento, tales como la xilanasa, glicoproteínas de cadena simple que catalizan la hidrólisis de los enlaces glicosídicos  $\beta$ -1,4 de la cadena de arabinoxilanos (Rocca, 2011).

El objetivo de este escrito es evaluar el efecto de adicionar enzimas xilanasa y amilasa maltogénica en la formulación de pan marraqueta precocido congelado, almacenado en refrigeración durante 10 días, sobre sus propiedades sensoriales y de aceptación.

## **2. Marco Teórico**

### **2.1. Conceptos Generales**

El Reglamento Sanitario de los Alimentos define el término pan sin otra denominación al producto de la cocción de la masa resultante de una mezcla de harina de trigo, levadura de panificación, agua potable y sal comestible, con o sin adición de mejoradores de panificación y/o enriquecedores, tales como: leche, azúcares, materias grasas u otros autorizados (Minsal, 2011).

El pan es uno de los alimentos de mayor consumo en el mundo (Anexo 1) y la tecnología de panificación es probablemente una de las más antiguas. Esta tecnología ha evolucionado continuamente a través de los años con nuevos materiales, ingredientes y equipamiento (Zhou, 2007).

### **2.2. Consumo de pan en Chile**

Su consumo se extiende a todas las naciones del mundo, siendo Rusia quien lidera el ranking con cifras que alcanzan los 130 kg per cápita, seguido por Chile, en donde el consumo asciende a 90 kg per cápita (Alfa Group, 2021).

Dentro de los tipos de pan que se comercializan, las ventas se centran en pan marraqueta y pan hallulla (Anexo 2). En conjunto concentran el 88% del mercado, siendo absolutamente marcada su importancia en el mercado del pan y la obtención de productos constantemente de mejor calidad (Indupan, 2017). Según, la VIII Encuesta de Presupuestos Familiares realizada por el INE (2019), el 91,5% de los hogares realiza compra de pan corriente (INE, 2019).

### **2.3. Materias Primas en la elaboración de pan**

#### **2.3.1. Harina**

Sin otro calificativo, harina es exclusivamente el producto obtenido de la molienda del endospermo del grano de trigo limpio (Mesas, 2002).

El Reglamento Sanitario de los Alimentos dispone de ciertas características que debe cumplir la harina: contener hasta un máximo de 15,0% de humedad, un máximo de 0,25% de acidez expresada en ácido sulfúrico, un máximo de 0,65% de cenizas, un máximo de 0,4% de fibra cruda, no contener menos de 7,0% de materias nitrogenadas ( $N \times 5,7$ ) y ser blanca, marfil o ligeramente amarillenta (Minsal, 2011).

La composición química de la harina de trigo (Anexo 3) respecto del grano varía durante el proceso de molienda y la modificación más importante que se produce es la disminución del contenido proteico y un aumento en la concentración del almidón (Roccia, 2011).

Las propiedades de la harina de trigo para formar una masa cohesiva que puede ser horneada para obtener productos aireados y con estructura esponjosa, están relacionadas con las proteínas presentes en el gluten. El gluten es definido como una red tridimensional formada por las proteínas de almacenamiento del grano de trigo cuando se trabaja mecánicamente una mezcla de harina y agua (Ribotta y Tadini, 2009).

### 2.3.2. Agua

Es el segundo componente presente en mayor cantidad en la masa de pan. Se adiciona para humectar los componentes de la harina, puesto que hincha los granos de almidón y permite la unión de las proteínas formadoras del gluten y el desenvolvimiento de las levaduras. El agua que se emplea en la industria de los productos horneados y en particular en la formación de la masa debe ser potable (Quaglia, 1991).

El agua hidrata la harina facilitando la formación del gluten, con ello y con el trabajo mecánico del amasado se le confieren a la masa sus características plásticas: la cohesión, la elasticidad, la plasticidad y la tenacidad. La presencia de agua en la masa también es necesaria para el desarrollo de las levaduras que han de llevar a cabo la fermentación del pan (Mesas, 2002).

### 2.3.3. Sal

Es adicionada principalmente por razones de sabor, pero además interviene en la formación de la red de gluten e influye en la fermentación, alterando el equilibrio osmótico al cual están sujetas las células de levadura (Ribotta y Tadini, 2009). Sobre su función de reforzador de la red de gluten, es a nivel de la gliadina, uno de sus dos componentes. Ésta tiene menor solubilidad en el agua con sal, lo que da lugar en una masa obtenida con agua salada a la formación de una mayor cantidad de gluten (Quaglia, 1991).

### 2.3.4. Levadura

Las levaduras son microorganismos unicelulares ampliamente utilizados en procesos industriales. En panadería se utiliza principalmente la levadura de destilería, que es de la especie *Saccharomyces cerevisiae* (Olmedo, 1964).

La actividad de esta levadura agregada a la masa genera dióxido de carbono, que produce el desarrollo de volumen. La preservación de la actividad biológica de la levadura es fundamental en los procesos de congelamiento y almacenamiento congelado de la masa (Ribotta y Tadini, 2009). Su acción también está enfocada en producir compuestos químicos que dan al pan su sabor característico y facilitar cambios sobre la estructura del gluten, lo que se conoce como maduración de la masa (Quaglia, 1991).

Hay tres formas de levadura para pan, la levadura fresca o prensada, levadura seca activa y levadura instantánea. Según el tipo que se use, la proporción a utilizar será distinta. Generalmente se emplea levadura fresca en la elaboración de pan (Sánchez, 2013).

### 2.3.5. Mejoradores

La función que cumplen los mejoradores es la de reforzar las características de la harina, para que la masa resultante pueda ser manipulada en un proceso mecanizado. Así, la masa tendrá una buena capacidad de producción y retención

de gas. La consecuencia final sobre el producto, cuando se han utilizado el tipo y la dosis adecuados es un mayor desarrollo de la pieza, mayor suavidad de la miga, buen color y brillo de la corteza, que cruje suavemente sin desprenderse (Tejero, 2017).

Son una mezcla de tres tipos de materias activas fundamentales: agentes oxidantes, emulsionantes y enzimas cuya función es la de acomodar los mecanismos de actuación fundamentales, a usos más específicos. Siempre existirá un excipiente, la materia que permite la mezcla de los diferentes ingredientes y la dosificación posterior de los productos: harina de trigo, carbonato cálcico y otros (Tejero, 2017).

### 2.3.6. Azúcar

Los azúcares que se añaden a la masa tienen, además efecto sobre la propiedad de absorción, sobre el tiempo de desarrollo de la masa y sobre las características organolépticas del producto (Quaglia,1991).

El azúcar también participa en las características organolépticas del producto final. El color de la superficie del pan se debe a la reacción entre los azúcares y los aminoácidos (reacción de Maillard) y a la caramelización de los azúcares por el calor (Quaglia,1991).

## **2.4. Pan precocido congelado**

El concepto de pan fresco de panadería artesanal hay ido mutando dada la exigencia por parte del consumidor por contar con pan a cualquier hora (apoyado también en el consumo diario per cápita), lo que ha llevado a las cadenas de mercados a optar por productos congelados que puedan almacenarse y terminar de hornearse durante la jornada según la demanda.

El concepto de pan precocido congelado se refiere a la elaboración de pan siguiendo las mismas etapas que pan fresco. Sin embargo, la etapa de horneado es interrumpida llevando aproximadamente un 70% de progresión (con motivo de inactivar la acción de las levaduras y lograr la cocción propiamente tal del producto)

para luego someterlo a etapas de enfriado y congelado. Este producto terminado llega en condiciones de congelación al punto de venta y almacenado en cámaras acondicionadas para el mismo estado. Para su exhibición, sólo se necesita descongelar a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos y aplicar un horneado durante algunos minutos para otorgarle el color dorado típico del pan en su corteza y el aroma característico. Esta es una importante ventaja del pan precocido congelado, ya horneado en el punto de venta el producto consigue características de un producto fresco y aroma llamativo para el consumidor (provocada por compuestos volátiles provenientes de la fermentación y del horneado).

Existen muchos puntos de venta donde la cámara de almacenamiento no es de congelación, sino que cuentan con cámaras de refrigeración (0-5°C), por el alto costo de mantención de las primeras. En estos lugares el pan almacenado puede llegar a presentar diversos problemas, como lo son el crecimiento de microorganismos (mohos) y de calidad como aplastamiento y deformaciones de unas unidades con otras, además de verse afectada la textura a lo largo del tiempo por la retrogradación del almidón.

**2.5. Etapas de elaboración de pan marraqueta precocido congelado**

- Diagrama de Bloques Proceso de Elaboración de Pan Precocido Congelado

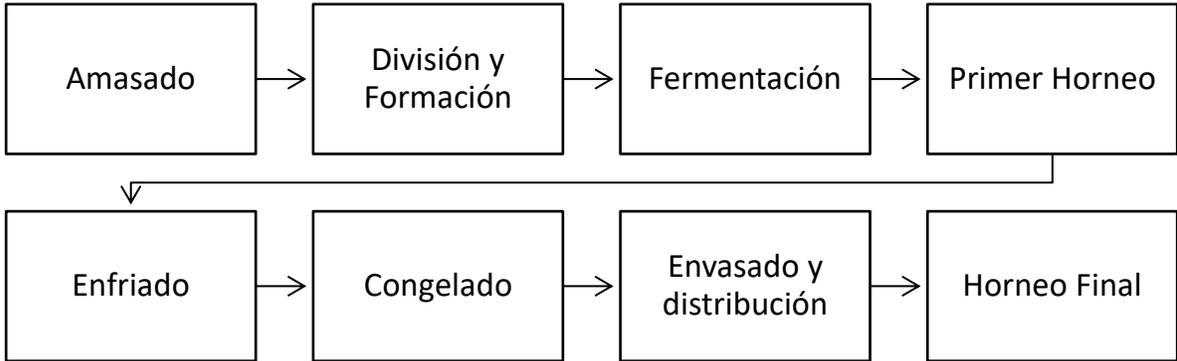


Figura 1. Diagrama de proceso de marraqueta precocida congelada

### 2.5.1. Amasado

Sus objetivos son lograr la mezcla homogénea de los distintos ingredientes y conseguir, por medio del trabajo físico del amasado, las características plásticas de la masa, así como su oxigenación (Mesas, 2002). Durante este proceso, los componentes de la harina (almidón, proteínas, grasas, cenizas y enzimas), pierden su individualidad y, junto con sus demás ingredientes, van a dotar a la masa de sus características plásticas (fuerza y equilibrio) (Tejero, 2017).

El amasado se realiza en máquinas denominadas amasadoras, que constan de una batea donde se depositan los ingredientes y de un elemento amasador siendo las espirales (“cola de chanco”) las más comúnmente utilizadas en la actualidad (Mesas, 2002).

### 2.5.2. División y Formación

Teniendo ya la masa desarrollada de manera correcta se prosigue a darle la forma definida según el producto. En el caso de las marraquetas, en primer lugar, se divide el bloque de masa según el peso definido (ya sea en elaboración manual o industrial). Luego pasa por un proceso de ovillado desarrollado por una maquina ovilladora que le da la forma mediante vibraciones y movimientos oscilantes con una velocidad (rpm) definida. Teniendo cada bollo ya desarrollado, se procede a juntar dos de ellos y se realiza una marca (*stamping*) a lo largo de ambos bollos, marca que dará la forma característica del producto. Luego pasa a la siguiente etapa de fermentación.

### 2.5.3. Fermentación

La obtención de un pan voluminoso, de miga uniformemente alveolada, de color satisfactorio, no sólo depende de la calidad de la harina empleada, sino que también viene condicionada por el adecuado control de toda una serie de transformaciones químicas y enzimáticas, lo que se conoce como fermentación panaria (Olmedo, 1964).

Consiste básicamente en una fermentación alcohólica llevada a cabo por levaduras que transforman los azúcares fermentables en etanol, CO<sub>2</sub> y algunos productos secundarios debido a otras fermentaciones que también ocurren, pero son menos relevantes y más lentas (Fig. 2). Los objetivos de la fermentación son la formación de CO<sub>2</sub>, para que al ser retenido por la masa ésta se esponje, y mejorar el sabor del pan como consecuencia de las transformaciones que sufren los componentes de la harina (Mesas, 2002).

La velocidad de fermentación alcohólica es proporcional a la temperatura. Por debajo de 20°C y por encima de 40°C la velocidad empieza a disminuir. El desarrollo óptimo de la fermentación está comprendido entre los 26°C y los 30°C (Bustamante, 2011).

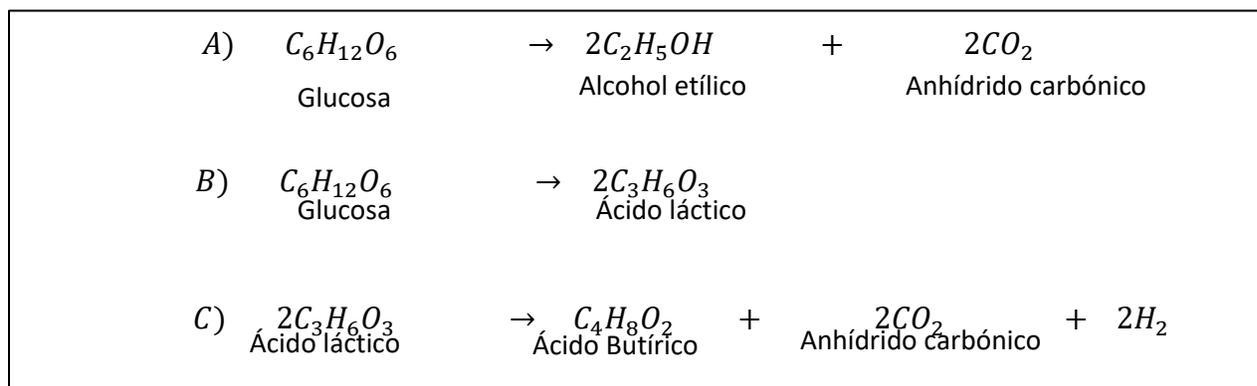


Figura 2. Reacciones del proceso de fermentación panaria. A) Fermentación alcohólica B) Fermentación láctica C) Fermentación butírica. Fuente: Quaglia, 1991

La levadura se destruye a una temperatura superior a los 53°C. Con una temperatura superior a los 43°C la actividad de las levaduras se reduce y la proporción de esta reducción depende del tiempo de contacto con el calor (Quaglia, 1991).

#### 2.5.4. Primer Horneo

Su objetivo es la cocción de las masas. Durante el incremento de la temperatura aumenta la actividad de la levadura y produce grandes cantidades de CO<sub>2</sub>. A los 45°C, se inactiva la levadura, terminándose todo aumento de volumen a los 50°C,

pues se produce su muerte. Entre los 60-80°C, se presenta la coagulación de las proteínas del gluten y además se gelatiniza el almidón, adquiriéndose la estructura definitiva del pan. La máxima temperatura interna que alcanza el pan es de 100°C, y la externa es de 190-270°C, refiriéndose en este punto al pan como cocido (Plaza, 2015).

Esta es la etapa fundamental y decisiva para la producción del pan precocido congelado. Lo ideal es precocer con calor decreciente. Para un horno rotativo se debe comenzar a 280°C y una vez inyectado el vapor, se debe bajar la temperatura entre 220 y 240°C durante 12 min aproximadamente. Cuando la precocción ha alcanzado los 12 min, la actividad enzimática y la coagulación del gluten han llegado a su fin, lo que quiere decir que la estructura está fijada, pese a que todavía el producto es frágil (Tejero, 2017).

#### 2.5.5. Enfriado

Una vez que el pan sale del horno, ya sea para congelar o envasar, el pan debe enfriarse durante 30-40 min, tiempo necesario para que la temperatura interior descienda hasta los 30°C. Si no se respetan estos parámetros, significa un mayor costo en el proceso de congelación y disminuye la capacidad de los equipos de frío (Normahomed, 2005).

Si el tiempo de enfriamiento es muy prolongado, y el pan está expuesto a corrientes de aire, se puede producir desecación y envejecimiento progresivo que afectan la calidad final del producto (Normahomed, 2005).

#### 2.5.6. Congelado

La congelación del pan precocido se efectúa inmediatamente después del enfriamiento (Normahomed, 2005). Este proceso consiste en una congelación en un tiempo menor (entre veinte a cuarenta minutos), a una temperatura muy baja (inferior a -40°C). Esto permite conservar al máximo la estructura física de los productos, que sufren un enfriamiento brusco para alcanzar rápidamente la temperatura de máxima cristalización en un tiempo breve. El proceso se completa

una vez lograda la estabilización térmica del producto de panificación a  $-18^{\circ}\text{C}$  o inferior (escenario ideal) (Sánchez, 2013).

Las técnicas actuales no sólo pretenden evitar el desarrollo de microorganismos, la actividad enzimática o la pérdida nutritiva, sino también conservar las características sensoriales y organolépticas (Sánchez, 2013).

Para realizar este proceso se utilizan los llamados túneles de congelación, algunos discontinuos y otros continuos (Sánchez, 2013). En la Empresa se manejan túneles de congelado con cinta transportadora, por lo que el producto realiza el recorrido por todo el túnel en un tiempo determinado. La temperatura de la cámara debe permanecer estable y homogénea a fin de evitar transferencia de vapor de agua y condensaciones en forma de hielo en la superficie del pan, que tienen como consecuencia el desprendimiento de la corteza y de la miga, durante la descongelación (Normahomed, 2005).

#### 2.5.7. Envasado y distribución

El pan elaborado se envasa a granel en un envase primario correspondiente a bolsas transparentes de PEAD (Polietileno de alta densidad). Como envase secundario se utilizan cajas de cartón corrugado con una resistencia columnar suficiente para soportar el paletizado. Una vez armado el pallet con el pan se almacena en cámaras acondicionadas (con sistema de frío) durante el tiempo necesario para alcanzar los  $-12^{\circ}\text{C}$  a  $-18^{\circ}\text{C}$  y ser despachado o distribuido al punto de venta del cliente.

#### 2.5.8. Horneo Final

Una vez el pan ya está almacenado en los puntos de venta o locales dentro de cámaras de congelación o refrigeración, según sea el caso, se van retirando y disponiendo en latas lisas de forma ordenada cubriendo la superficie de la lata. Se dejan descongelando aproximadamente 15 minutos y luego pasan por un proceso de horneado final con perfiles tiempo/temperatura habitualmente de 6 minutos a

200°C. Esta situación puede variar según el tipo de horno, su potencia y la carga con la que se trabaja.

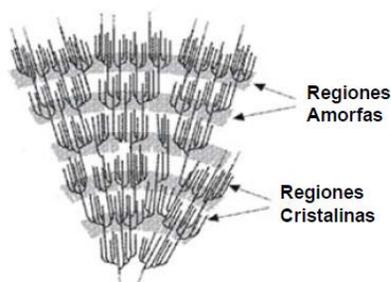
## 2.6. Envejecimiento del pan

El pan es un alimento que se deteriora rápidamente debido a que en él ocurren fenómenos que causan cambios de sabor, pérdida de aroma, pérdida de agua, endurecimiento de la miga y ablandamiento de la corteza. Esto provoca como consecuencia que el pan deje de ser aceptado por consumidores a los dos o tres días de su elaboración (Luna-Fernández, 2011).

El conjunto de cambios indeseables que sufre el pan luego del horneado se conoce como envejecimiento. Aunque sus consecuencias son fáciles de detectar en cuanto a la calidad del producto, sus causas involucran otros fenómenos fisicoquímicos complejos. Entre estos, la retrogradación del almidón es el más importante responsable del endurecimiento y envejecimiento del pan (Luna-Fernández, 2011).

### 2.6.1. El almidón

El almidón es un importante polisacárido en alimentos de origen vegetal. Las mayores fuentes botánicas y comerciales de almidones son los cereales, tubérculos y raíces. El interior de los gránulos está formado por regiones cristalinas y amorfas alternadas, por lo que el almidón es descrito como un polímero semicristalino o parcialmente cristalino (Fig. 3) (Steffolani, 2010).



*Figura 3 Regiones amorfas y cristalinas del almidón. Fuente: Steffolani, (2010)*

Los gránulos de almidón son insolubles en agua (Luna-Fernández, 2011). El almidón está compuesto por dos fracciones: la *amilosa* y la *amilopectina*. La amilosa es definida como una molécula esencialmente lineal, compuesta por 500-6000 unidades de glucosa (18-30% del almidón) unidas por enlaces  $\alpha$ -(1-4), con escasos puntos de ramificación formados por enlaces  $\alpha$ -(1-6) y la amilopectina (70-80% del almidón) está formada por una cadena central similar a la de la amilosa, pero posee ramificaciones con enlaces  $\alpha$ -(1-6) cada 9 a 20 unidades de D-glucosa (Fig. 4). El enlace  $\alpha$ -1,4 imparte a la molécula un giro natural, con lo que la conformación de las cadenas es helicoidal (Steffolani, 2010; Karim, 2000).

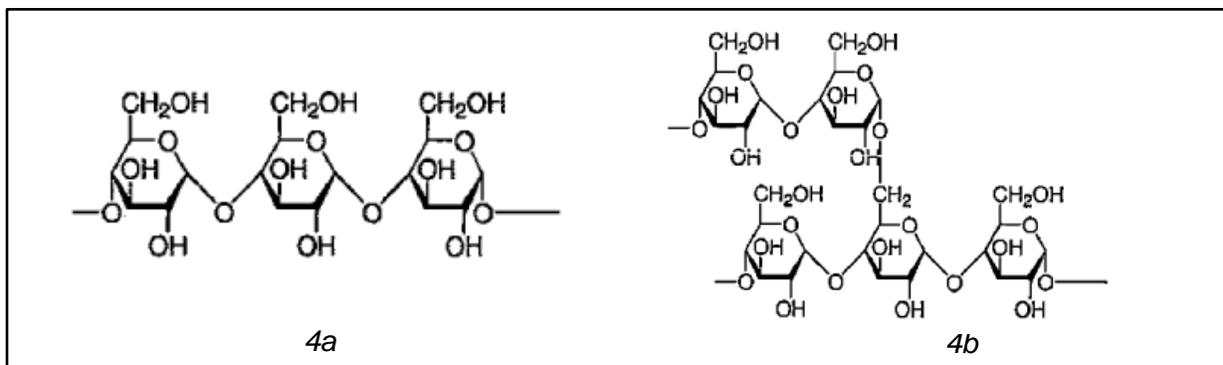


Figura 4 Representaciones de componentes del almidón. 4a) Estructura amilosa lineal. 4b) Estructura amilopectina ramificada con punto de ramificación (1-6). Fuente: Quaglia (1991)

### 2.6.2. La retrogradación del almidón

El envejecimiento de los productos panificados está definido como la disminución de la aceptación por parte del consumidor causada por cambios que no resultan de la acción de microorganismos dañinos.

Cuando los gránulos de almidón son sometidos a tratamientos térmicos, experimentan distintas transiciones de fase, llamadas gelatinización y retrogradación. Como consecuencia de la combinación de calor ( $55\text{-}60^\circ\text{C}$ ), humedad y tiempo durante la cocción del pan, los gránulos de almidón se hinchan y gelatinizan (Fig. 5A). La gelatinización es la destrucción irreversible del orden molecular de los gránulos de almidón. Durante la gelatinización, una pequeña

cantidad de almidón, principalmente amilosa, es liberada en la región intergranular lo que conduce a un aumento de la viscosidad (Fig. 5B) (Steffolani, 2010).

Durante el enfriamiento y el almacenamiento del pan las moléculas de almidón se reasocian dando lugar a un estado más ordenado o cristalino, proceso llamado retrogradación. La estructura y la firmeza del pan durante las primeras horas después del horneado están dadas por la retrogradación o gelificación de la amilosa solubilizada. La amilosa gelificada forma una red continua, rodeando los gránulos de almidón hinchados y deformes (Fig. 5C). La retrogradación de la amilopectina ocurre a una velocidad mucho menor que la amilosa por lo que se postula como uno de los fenómenos responsables del envejecimiento del pan durante su almacenamiento. Los principales cambios en rigidez de los geles son atribuidos a la amilopectina (Steffolani, 2010).

Durante el almacenamiento, el pan pierde gradualmente su frescura, las alteraciones más notorias son: pérdida de la crujencia de la corteza, aumento de la firmeza y disminución de la elasticidad de la miga y los cambios en el aroma y sabor. La corteza pierde su textura crocante por la transferencia de humedad desde la miga y el sabor y el aroma se debilitan por la merma en las sustancias volátiles. La pérdida de humedad de la miga junto con la recristalización de la amilopectina (asociaciones entre las cadenas) son los dos mecanismos admitidos como válidos (Figura 5D) (Steffolani, 2010).

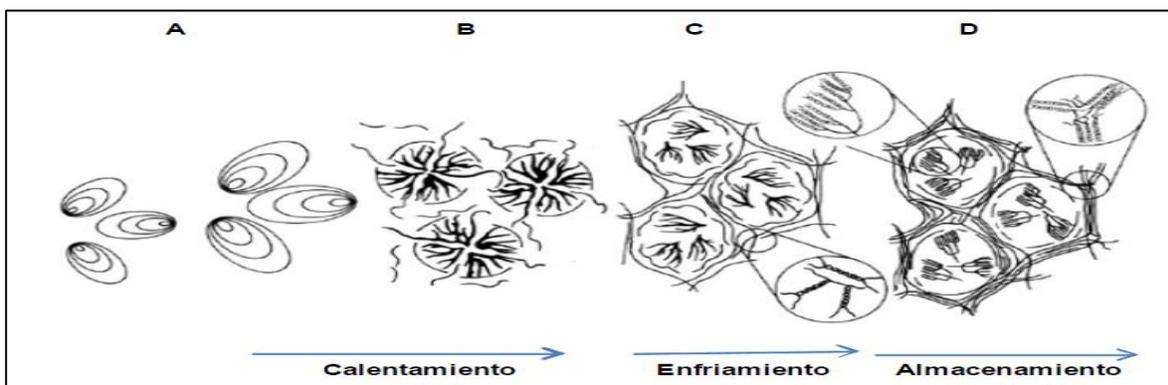


Figura 5 Etapas de transformación de almidón (A) Hinchamiento de gránulos de almidón. (B) Gelatinización de almidón. (C) Retrogradación de amilosa. (D) Retrogradación de amilopectina. Fuente: Steffolani (2010)

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 (Vergara, 2011).

## **2.7. Vida útil del pan marraqueta**

La vida útil de un alimento está definida como el período durante el cual la pérdida de calidad no se excede de un nivel tolerante. La vida útil del pan está mayormente afectada por el envejecimiento, fenómeno el cual depende de la retrogradación del almidón y la pérdida de humedad (Pasqualone, 2017).

La producción moderna de alimentos necesita de cierta vida útil en sus productos y una vida útil más extensa es considerada como una ventaja competitiva dando una producción más flexible y centralizada, un mayor tiempo de exposición en el mercado y mayor comodidad para el consumidor. La vida útil extendida se logra mediante el control de las reacciones claves, decisivas para la vida útil y, por lo tanto, otras reacciones normalmente consideradas de menor importancia pueden ser importantes para determinar la vida útil. La vida útil del pan está normalmente limitada por la firmeza del producto (textura) y el crecimiento microbiano (Thybo, 2011).

La textura es una importante característica del alimento para la percepción del consumidor e influencia la decisión de compra. Se define la textura de un alimento como la manifestación sensorial de la estructura de un producto en términos de su reacción al estrés por el movimiento en el músculo de la mano, dedos, lengua, mandíbula o labios (ejemplo: adhesividad, cohesividad, dureza, etc.) y las propiedades de la sensación táctil medida por los nervios táctiles en la superficie de la piel de las manos, labios o lengua (ejemplo: grasitud, sensibilidad, humedad, etc.) (Giannone, 2016).

La suavidad (firmeza) de la miga y su elasticidad son dos características importantes para la descripción de la frescura de la miga percibida por el consumidor. La suavidad o firmeza indica la fuerza necesaria para comprimir la miga, mientras que la elasticidad indica la resiliencia (memoria) o resistencia dada por la miga mientras se ejerce una presión. Las dos características de textura no se correlacionan necesariamente una con la otra. Un pan con miga firme no necesariamente tiene una miga más elástica o viceversa. El envejecimiento del pan resulta en una reducción de la elasticidad y un aumento en la firmeza de la miga (Whitehurst and Law, 2002).

En estos dos factores de textura y, por lo tanto, en la vida útil del pan marraqueta influyen además de la retrogradación del almidón propiamente tal otros factores que la suavidad de la miga, sin necesariamente involucrar la retrogradación del almidón (Whitehurst and Law, 2002). Estos son: Calidad de la harina de trigo, Volumen del pan, Estructura de la miga, Formulación y proceso, Condiciones de almacenamiento.

Una vida útil más larga significa que el pan almacenado tiene una miga suave y una gran elasticidad tal como el pan recién hecho. El agente anti-envejecimiento óptimo debe ser el que pueda mantener la suavidad de la miga, así como su elasticidad durante todo el almacenamiento (Whitehurst and Law, 2002).

## **2.8. Uso de enzimas en panadería**

Las enzimas son una herramienta útil en panificación debido a su capacidad para mejorar las propiedades de la masa y la calidad final en el producto (Hernández, 2016).

Se obtienen de plantas, animales o fuentes microbianas. Funcionan al unirse temporalmente a uno o más elementos específicos de la reacción que afectan. De esta manera, disminuyen la cantidad de energía de activación necesaria para desencadenar la reacción y acelerarla. A diferencia de muchas alternativas

químicas, las enzimas son eficientes, específicas y biodegradables (Lemlioglu, 2017).

La actividad de las enzimas depende del pH, temperatura, actividad de agua, fuerza iónica y la presencia de diferentes moléculas en el medio. Existen de origen fúngico, bacteriano y proveniente de cereales. Cada una de estas tiene diferente pH y estabilidad térmica (Lemlioglu, 2017).

Dentro de la importancia que les han atribuido a las enzimas está su rol como aditivo para alterar propiedades como sabor, textura, manufacturabilidad, etc., como es el caso de la adición de amilasa para mejorar la estructura de la miga del pan (Deive, 2017). Se utilizan para estandarizar la calidad variable de las harinas (por factores climáticos y condiciones de crecimiento) resulta útil la adición de enzimas como xilanasas,  $\alpha$ -amilasa, glucosa oxidasa y proteasa. Algunos de los beneficios funcionales de la adición de enzimas en productos panificados son: tolerancia al proceso y resistencia de la masa al trabajo mecánico, incremento en el volumen, mejora de la apariencia (color, forma y simetría), mejora de la textura y de la calidad global del producto (Montiel, 2008).

Dado los cambios en la industria de la panificación, las enzimas han ido ganando más importancia en la formulación de panes por la demanda de productos naturales y variados. Un ejemplo es la xilanasas pura, con una sola actividad en lugar de preparaciones de hemicelulosas, la cual mejora el manejo mecánico de la masa. La lipasa tiene un efecto de reforzar el gluten teniendo una masa más estable y una estructura de miga mejorada similar al efecto del DATEM y SSL. La amilasa maltogénica tiene un efecto sobre el envejecimiento del pan o la retrogradación (Whitehurst and Law, 2002).

El retraso del envejecimiento del pan se puede efectuar mediante el uso de enzimas amilolíticas y no amilolíticas como coadyuvantes tecnológicos. Estas enzimas degradan los polisacáridos diferentes del almidón y/o de enzimas que modifican los lípidos y el gluten (Luna-Fernández, 2011).

## 2.9. Antecedentes de las enzimas xilanasa y amilasa maltogénica

### 2.9.1. *Xilanasa*

Las xilanasas son genéticamente glicoproteínas de cadena simple, con un pH de acción entre 4,5 y 6,5 y una temperatura entre 40 y 60°C. Dependiendo de la fuente es su requerimiento en temperatura, pH, etc., para su óptima funcionalidad (Anexo 6). La fuente más común de xilanasas es la fúngica (Tahir-Nadeem, 2007). Detalles de distintos tipos de xilanasa se describen en Anexo 4.

Como su nombre lo indica, las xilanasas actúan rompiendo polisacáridos llamados xilanos, un importante componente en las paredes celulares constituidos de residuos de xilopiranosil unidos por enlaces  $\beta$ -1,4 (Fig. 6). La completa hidrólisis enzimática de xilanos en sus monosacáridos constituyentes requiere la acción sinérgica de un grupo de enzimas xilanolíticas. La enzima más importante es la endo.1,4-xilanasa (Tahir-Nadeem, 2007). El verdadero mecanismo de las xilanasas en la elaboración de pan no ha sido dilucidado claramente (Whitehurst and Law, 2002).

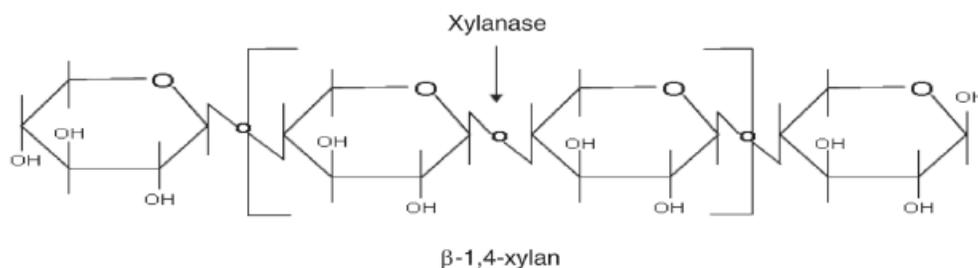


Figura 6 Estructura de un xilano residuos de xilopiranosil unidos a través de enlaces  $\beta$ -1,4.

Fuente: Tahir-Nadeem, *Food Technol. Biotechnol.*

La enzima xilanasa hace a la masa más tolerante a diferentes calidades de harina y variaciones en los parámetros de proceso (Tahir-Nadeem, 2007).

La aplicación de estas enzimas en la industria de panificación se ha incrementado en las últimas décadas, propiciado por su efectividad en la elaboración de pan. Lideran la mejora de propiedades reológicas en la masa, el volumen específico del pan y la firmeza de la miga (se obtiene una miga suave) (Tahir-Nadeem, 2007).

Los beneficios de usar xilanasa en lugar de pentasas tradicionales está en que hay muchas menos actividades secundarias cuando se usa xilanasa. Por lo tanto, una baja dosificación logra el mismo efecto con menos riesgo de posibles interferencias de actividades secundarias (Whitehurst and Law, 2002).

### 2.9.2. Amilasa maltogénica

El trigo y por lo tanto la harina de trigo contiene enzimas en forma endógena, principalmente amilasas. Sin embargo, el nivel de actividad amilasa varía de un tipo de trigo a otro y la cantidad de alfa-amilasa en muchos casos es ínfima. Por lo tanto, muchas harinas panaderas deben ser suplementada con alfa-amilasas, agregadas en la forma de harina de malta o enzimas fúngicas. Las amilasas hidrolizan amilosa y amilopectina en dextrinas menores (Whitehurst and Law, 2002).

Las alfa-amilasas fúngicas tienen generalmente baja estabilidad térmica, inactivándose a temperaturas cercanas a 65°C, al comienzo de la etapa de gelatinización del almidón durante el horneado. Una dosificación adecuada de la enzima resulta en una masa más blanda, deseable para su procesamiento. Por el contrario, si se hace una sobredosificación, se tendrá una masa pegajosa, difícil de trabajar en las mezcladoras y en la línea productiva (Whitehurst and Law, 2002).

La alfa-amilasa bacteriana de *Bacillus subtilis* es capaz de inhibir el envejecimiento por hidrólisis de enlaces glucosídicos dentro de las áreas de almidón gelatinizado (Whitehurst and Law, 2002).

La alfa-amilasa maltogénica tiene buena termoestabilidad. Por lo tanto, es capaz de hidrolizar los enlaces glicosídicos del almidón gelatinizado durante el proceso de horneado, pero no degrada en exceso el almidón porque se inactiva durante la última etapa de horneado. Una ventaja importante con la alfa-amilasa maltogénica es su tolerancia a la sobredosificación; no afecta las propiedades reológicas de la masa debido a su baja actividad a una temperatura inferior a 35°C. El riesgo de sobredosis es, por lo tanto, mucho más bajo que con los otros dos tipos de amilasas (Whitehurst and Law, 2002).

## 2.10. Metodología de Superficie de Respuesta (MSR)

La metodología de superficie de respuesta, o MSR, es una colección de técnicas matemáticas y estadísticas útiles en el modelado y el análisis de problemas en los que una respuesta de interés recibe la influencia de diversas variables y donde el objetivo es optimizar esta respuesta. Esto se puede representar bajo la siguiente función:

$$y = f(x_1, x_2) + \varepsilon$$

Donde  $\varepsilon$  representa el ruido o error observado en la respuesta  $y$ . Si la respuesta esperada se denota por  $E(y) = f(x_1, x_2) = \mu$ . En este caso a  $\mu$  se le llama superficie de respuesta (Montgomery, 2004).

El objetivo del método es determinar las condiciones de operación óptimas del sistema o determinar una región del espacio de los factores en la que se satisfagan los requerimientos de operación (Montgomery, 2004).

## 2.11. Análisis de Textura Instrumental

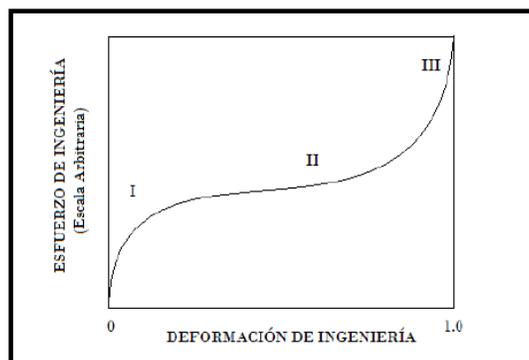
La medida instrumental de la textura fue propuesta como una alternativa a la evaluación sensorial con el fin de superar inconvenientes de esta, debido a la gran variabilidad en los resultados, dificultad de ejecución e interpretación de los resultados. Sin embargo, es necesario que las medidas obtenidas con el método instrumental, puedan correlacionarse con las respuestas de jueces de análisis sensorial, con el fin de validar la técnica instrumental (Torres, 2014).

El método instrumental para analizar el perfil de textura (TPA) imita las condiciones a que se somete el material durante el proceso de masticación. Es un excelente procedimiento instrumental para medir, cuantificar y desarrollar nuevos parámetros relacionados con la textura, aunque la magnitud de estos parámetros está influenciada por las variables introducidas en las mediciones como la tasa de deformación; coeficiente que expresa el cambio del tamaño de un cuerpo debido a las fuerzas aplicadas sobre el mismo; para que ellas brinden información objetiva que se puede comparar bajo condiciones estandarizadas (Torres, 2014).

De la curva obtenida con el análisis 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. El concepto también es conocido como Firmeza (Firmness)
- Cohesividad (cohesiveness) es definido como la razón del área positiva lograda durante la segunda compresión y del área positiva de la primera compresión ( $A2/A1$ ).
- 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.

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 (Vergara, 2011).



*Figura 7 Esquema de la curva esfuerzo de compresión v/s deformación para alimentos esponjosos (Vergara, 2011)*

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 (Vergara, 2011)

### **2.12. Determinación de Actividad de agua**

El contenido de humedad de los alimentos es de suma importancia científica, técnica y económica, pero su determinación exacta es sumamente difícil de realizar. El agua se encuentra en los alimentos de forma libre o de forma enlazada. La forma enlazada es la que se refiere a las moléculas de agua unidas en forma química; es decir con enlaces como puentes de hidrógeno o grupos iónicos o polares. Por otro lado, el agua libre es la que no está unida a la matriz principal del alimento y se puede perder con facilidad si es que la muestra es llevada a congelación, si es que es secada o si bien es evaporada (Matos, 2020).

La actividad de agua ( $A_w$ ) es una medida del agua libre o agua disponible en una matriz alimentaria. El valor de  $A_w$  depende de la composición, la temperatura y el contenido en agua del producto. Tiene incidencia sobre las características de calidad, tales como: textura, sabor, color, gusto, valor nutricional del producto y su tiempo de conservación. La adición de sustancias que disminuyen la actividad de agua favorece la actividad de los conservadores en los alimentos. Las sustancias más activas y utilizadas con el fin de retener agua son: sal, azúcares, glicerina y glicoles comestibles. A valores de  $A_w$  bajos no pueden prosperar la mayoría de los microorganismos, por el contrario, existen muchas levaduras y mohos que desarrollan bien en  $A_w$  menor a 0,85 (Matos, 2020).

En este tipo de instrumentos la muestra se equilibra dentro de una cámara sellada que contiene un espejo que permite detectar la condensación en él. En el punto de equilibrio la humedad relativa del aire en la cámara es el mismo que la  $a_w$  de la

muestra. Una célula fotoeléctrica y un termistor detectan el punto exacto en el que se produce la condensación y la temperatura, respectivamente (Matos, 2020).

### **2.13. Determinación de vida útil**

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).

### **3. Hipótesis**

La acción individual o combinada de enzimas xilanasa y amilasa maltogénica en la elaboración de pan marraqueta precocida congelada logra prolongar la vida útil del producto almacenado bajo condiciones de refrigeración.

### **4. Objetivos**

#### **4.1. Objetivo General**

- Evaluar la estabilidad del pan marraqueta en condiciones de almacenamiento en refrigeración con la aplicación de enzimas para extender su vida útil.

#### **4.2. Objetivos Específicos**

- Evaluar, mediante diseño experimental, el efecto de los factores cantidad de amilasa maltogénica y xilanasa sobre las respuestas de daño mecánico, firmeza de miga, elasticidad de miga, cohesividad de miga y evaluación sensorial, al día 10 de almacenamiento refrigerado.
- Controlar parámetros de proceso durante la elaboración industrial de pan marraqueta precocido congelado.
- Realizar controles fisicoquímicos y microbiológicos al pan marraqueta durante el almacenamiento refrigerado.

## 5. Materiales y Equipos

### 5.1. Materiales

Para la elaboración del pan marraqueta se utilizaron los ingredientes proporcionados por Bredenmaster SpA, según receta tradicional interna del producto. Estos fueron:

- Harina de trigo blanca (con un 11% de proteínas)
- Agua de red
- Levadura fresca (prensada)
- Sal fina
- Gluten
- Mejorador
- Enzimas (tipo y cantidad según el experimento del diseño).

### 5.2. Equipos

En la Tabla 1 se indican los equipos utilizados en este trabajo. Respecto a los equipos para la elaboración de las muestras industriales, se hizo uso de la línea productiva de Bredenmaster.

*Tabla 1 Listado de equipos empleados en la elaboración y control de muestras*

Equipo	Especificación
Balanza Analítica	Snowrex BB-310
Balanza Granataria	DIKAIOS NHV-6 6000x0.2g
Medidos de actividad de agua	LabMaster-aw NEO
Texturómetro	TVT 7600, Pertens Instruments
Termómetro digital	HANNA HI 935005N
pH metro digital	Hanna

## 6. Metodología

### 6.1. Diseño experimental

Mediante Método de Superficie de Respuesta (MSR), se diseñó un modelo factorial de  $2^2$  con 3 puntos centrales, obteniendo 7 ensayos en total. Los factores experimentales fueron: concentración de enzima xilanasa y concentración de enzima amilasa maltogénica. Los límites de cada variable fueron definidos en base a la información entregada por proveedor y fueron desde la ausencia de la enzima hasta la dosis máxima recomendada por el fabricante. Las respuestas del diseño fueron: daño mecánico de unidades, firmeza de miga instrumental, la elasticidad de miga instrumental, la cohesividad de miga y los atributos de la evaluación sensorial: Apariencia, olor, sabor, textura de miga. Todas las respuestas se midieron y analizaron al día 10 de almacenamiento refrigerado.

Se utilizaron variables codificadas para distinguir los límites del método. El límite -1 (variable codificada) hace referencia a la ausencia de enzima. La variable codificada +1 hace referencia a la dosis máxima recomendada por el fabricante. La variable codificada 0 o puntos centrales hace referencia a la dosis mínima de enzima entregada por el fabricante y la variable codificada -1 hace referencia a ausencia de enzima en el ensayo. En la Tabla 2 se muestran las variables codificadas y decodificadas.

Tabla 2 Variables codificadas y decodificadas de ensayos

Ensayo	Xilanasa (codificada)	Amilasa Maltogénica (codificada)	Xilanasa (g/100kg de harina)	Amilasa Maltogénica (g/100kg de harina)
1	0	0	5	150
2	0	0	5	150
3	1	1	7,25	290
4	0	0	5	150
5	-1	1	0	290
6	1	-1	7,25	0
7	-1	-1	0	0

Los requisitos de cada respuesta para ser considerada influyente en la vida útil del pan marraqueta con la adición de enzimas son: Presentar significancia de alguno de los factores experimentales y ajuste de  $R^2$  sobre el 70%

#### *6.1.1. Respuestas del diseño experimental*

##### *6.1.1.1. Análisis de Textura Instrumental*

Se realizó el test TPA (Análisis de Perfil de Textura) según el método estándar AC Bread Curmb Firmness. donde fueron caracterizados los parámetros de firmeza, cohesividad y elasticidad de miga. Para todos los análisis se utilizó el equipo TVT 7600 de Pertens Instruments. Los detalles descritos se tabulan en Anexo 5.

El test aplicado a todas las muestras fue con un ciclo simple por compresión, usando una probeta cilíndrica de aluminio de 21 mm de diámetro. Se definió un 40% de compresión sobre la altura de la muestra (25 mm) y a una velocidad de acción del test de 1,7 mm/s. La unidad de medida de los resultados se expresó en gF.

Se consideraron 30 mediciones por cada ensayo para cada día del estudio. Las mediciones se hicieron cada día durante los 10 días del estudio.

##### *6.1.1.2. Evaluación Sensorial*

Para la evaluación sensorial de las diferentes muestras de pan marraqueta se utilizó a un panel entrenado propio de la empresa que recurrentemente participa de evaluaciones sensoriales con distintos productos, entre ellos pan. Se utilizó test de calidad de Karlsruhe de 9 puntos (Tabla en Anexo 16), donde los aspectos a evaluar fueron apariencia, olor, sabor y textura de miga. Se diseñó una tabla con atributos específica para este producto. Se evaluó con un panel de 8 jueces considerando el día 0, día 5 y día 10 de estudio. Se consideró el día 5 sólo en el caso de que al día 10 ya el producto no estuviera en condiciones de comestibilidad. A cada panelista se le entrego consecutivamente una muestra de cada ensayo de forma monódica usando agua mineral sin gas como medio de neutralización (Ejemplo de ficha de evaluación en Anexo 15)

Para la preparación de las muestras del día 0 se tomaron de la cámara de congelado y se dejaron descongelar por 30 minutos. Luego, se hornearon 10 unidades por 7 minutos a 205°C y posteriormente se dejaron enfriar a temperatura ambiente hasta conseguir los 20°C como temperatura interna. Para los días siguientes se retiraron del almacenamiento en condiciones de refrigeración establecidas y se hornearon según el perfil definido (24 unidades por 7 minutos a 205°C en horno modelo E200). Luego se dejaron enfriar hasta conseguir 20°C como temperatura interna antes de ser entregadas a los panelistas.

#### *6.1.1.3. Daño Mecánico en producto terminado*

Al producto terminado almacenado se hizo la cuantificación de unidades con daño mecánico (aplastadas) de cada ensayo mediante inspección visual. Se controló cada día del estudio. Para esto se retiró de la cámara de congelación 1 caja por cada ensayo y se hizo una inspección visual de las 35 unidades que la conforman. Para el resto de los días del estudio se fue retirando 1 caja de la cámara de refrigeración por cada ensayo en cada día y se repitió la metodología.

## **6.2. Plan de muestreo**

Las muestras para todos análisis se retiraron de la cámara de congelado 48 horas después de haberse producido y llevadas a la cámara de refrigeración (2°C a 4°C) donde se mantuvieron almacenadas durante los días del estudio. Se siguió el plan de muestreo descrito en el cuadro siguiente (Tabla 3):

Tabla 3 Plan de muestreo de estudio

Análisis	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9	Día 10
Microbiológico	X					X					X
Actividad de agua (aw)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
pH	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Firmeza*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Elasticidad*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Cohesividad*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Evaluación Sensorial*	X					X					X
Daño Mecánico*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

\*Respuestas utilizadas en diseño experimental.

En rojo se destaca el día utilizado para el diseño.

### 6.3. Elaboración de muestras

Las muestras para cada ensayo se elaboraron a nivel industrial en la línea de proceso de Bredenmaster SpA. Se hicieron 2 batch por cada ensayo (con peso de 238 kg aprox. cada uno). De cada ensayo se obtuvieron 2080 unidades de marraqueta aproximadamente.

En primer lugar, se pesaron cada uno de los ingredientes en un mix denominado “premix”. A la amasadora se le incorporó el “premix” junto con la harina y agua. Las enzimas presentes en la formulación de cada ensayo se agregaron en el “premix”.

Luego de haber obtenido la masa, se llevó a la tolva del inicio de la línea y se dio inicio al proceso productivo automático de producción, con la etapa de ovillado y división. Luego entró a la etapa de reposo y “stamping” donde se le dio la forma típica al pan. Después, avanzó a la fermentadora donde estuvo un total de 50 minutos como tiempo de residencia a temperatura y humedad definidas en documentos oficiales de la compañía.

La siguiente etapa por la que pasó fue al horno de cinta donde se consiguió el volumen y forma final, además de la generación de la miga y corteza. Luego, el pan se enfrió por aire forzado y posteriormente se congeló en túnel IQF hasta conseguir

los  $-9^{\circ}\text{C}$  como temperatura interna (esto se consiguió con temperatura y tiempo según documentos oficiales de Bredenmaster).

Finalmente, se envasó en bolsa transparente y en caja de cartón como envase secundario. Las cajas se llevaron a cámara de congelación y se almacenaron por 2 días.

#### **6.4. Preparación de muestras para análisis**

Transcurridos los 2 días de almacenamiento en cámara de congelación ( $-18^{\circ}\text{C}$ ), todas las muestras se llevaron a cámara de refrigeración ( $2^{\circ}\text{C}$  a  $4^{\circ}\text{C}$ ) para su almacenamiento durante los días de estudio. Sólo en el caso de las muestras para el día 0 se retiraron de la cámara de congelación y se dispusieron en latas para su descongelación a temperatura ambiente por 30 minutos para posteriormente realizar el segundo horneado a  $205^{\circ}\text{C}$  por 7 minutos. Finalmente se dejaron enfriar a temperatura ambiente hasta lograr los  $20^{\circ}\text{C}$  en el centro del producto.

Las muestras correspondientes al resto de los días se retiraron de la refrigeración en el respectivo día y se dispusieron en latas para hacer el segundo horneado a  $205^{\circ}\text{C}$  por 7 minutos. Luego se dejaron enfriar hasta conseguir los  $20^{\circ}\text{C}$  en el centro de cada marraqueta.

#### **6.5. Controles realizados durante la panificación**

##### **6.5.1. pH**

Se hicieron mediciones de pH a cada masa obtenida en los distintos ensayos realizados. La medición se hizo a la masa luego de la etapa de amasado.

Todas las mediciones se realizaron con equipo pHmetro digital y siguiendo el procedimiento establecido según IT (Instructivo de trabajo) proporcionado por Bredenmaster SpA. Las mediciones se hicieron por batch, es decir, cada ensayo contó con 4 mediciones.

### 6.5.2. Temperatura

Durante cada proceso de elaboración de masas se registró la temperatura de la masa obtenida con la utilización de termómetro digital de sonda. La temperatura fue medida al finalizar la etapa de amasado y finalizada la etapa de fermentación. Se hicieron 4 mediciones por ensayo en ambas etapas.

La medición se hizo según el procedimiento establecido en IT (instructivo de trabajo) para esta actividad, proporcionado por Bredenmaster SpA.

## 6.6. **Controles realizados durante el almacenamiento refrigerado**

### 6.6.1. Análisis microbiológico

Para controlar el estado microbiológico de las muestras evaluadas, se llevaron a laboratorio externo haciéndose el control de mohos, criterio establecido en el RSA para este tipo de productos. Se tomaron 200g de muestra de cada ensayo y se siguió el procedimiento oficial. Se evaluaron todos los ensayos al día 0, día 5 y día 10 del estudio.

### 6.6.2. Determinación de Actividad de agua

La actividad de agua se midió con equipo LabMaster-aw neo. Las muestras fueron preparadas según lo indicado por el equipo para su correcto funcionamiento. Se cortaron 25g de muestra y se dispusieron en capsulas especiales para el equipo. El equipo entregó la lectura en forma de aw (%). Se siguió la metodología de sensores de punto de rocío. Se midieron todos los ensayos cada día durante los 10 días del estudio y cada medición se hizo por triplicado.

### 6.6.3. Medición de pH en producto terminado

Se hicieron mediciones de pH a cada ensayo durante los 10 días del estudio. Para la medición del día 0 se tomaron las marraquetas congeladas, se descongelaron a temperatura ambiente y luego se hornearon por 7 minutos a 205°C. Finalmente, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se hizo la medición en el equipo. Para las

muestras de los días siguientes se retiraron de la cámara de refrigeración y se hizo el mismo procedimiento de horneado y enfriamiento posterior hasta hacer la medición en el equipo pHmetro.

Todas las mediciones se realizaron con equipo pHmetro digital y siguiendo el procedimiento establecido según IT (Instructivo de trabajo) proporcionado por Bredenmaster SpA.

### **6.7. Análisis Estadístico**

Tanto los resultados de análisis de textura instrumental como los obtenidos en la evaluación sensorial y daño mecánico fueron analizados estadísticamente mediante análisis de varianza de 2 vías (jueces y ensayos) para definir si existen diferencias significativas entre ellos.

## 7. Resultados

### 7.1. Controles realizados durante la panificación

#### 7.1.1. pH

El valor de pH medido a cada ensayo durante el proceso de elaboración de la masa resultó estar en el rango de 5,91 y 6,01 (resultados en Anexo 6). No se observaron diferencias significativas entre los ensayos para este control, lo que deja entender que la adición de enzimas no altera la acidez de la masa y la mantiene en los valores apropiados dados por el resto de la formulación panaria.

#### 7.1.2. Temperatura

Los resultados del control de temperatura de la masa luego de las etapas de amasado y de fermentación, dentro del proceso de elaboración de las muestras de los ensayos, se muestran en la Figura 8.

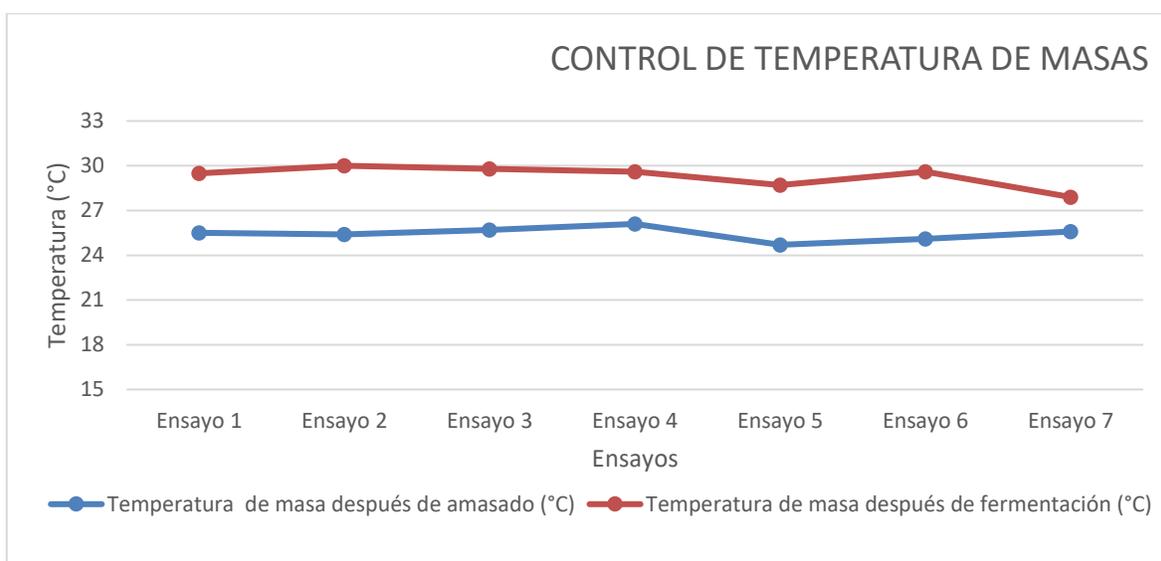


Figura 8 Control de temperatura de masas durante el proceso de elaboración de marraquetas

En cuanto a la temperatura después de la etapa de amasado, para todos los ensayos se obtuvieron valores entre los 25°C y 26°C. Según los documentos de control interno de Bredenmaster, luego del amasado las masas deben tener una temperatura resultante en el rango de 25°C a 26°C, por lo que los todos los ensayos

cumplieron en este aspecto, descartando esta variable en posibles variables en la calidad del producto final.

Ahora bien, en el caso de la temperatura luego del proceso de fermentación (condiciones de temperatura y humedad controladas) se obtuvieron valores en los 7 ensayos entre los 28°C y 30°C. Bredenmaster no tiene un rango indicado pero lo normal para un proceso de panificación es que luego de la fermentación la masa haya logrado la gasificación y consumo de la levadura, lo que lleva a una temperatura cercana a los 28-30°C. Una menor temperatura (y muy cercana a la temperatura de amasado) puede llevar a problemas de volumen y desgarros en el producto horneado, además de menor esponjosidad. Y una temperatura excesiva significa una sobrefermentación, posibilitando problemas de colapso, forma y a nivel interior se puede generar la inactivación enzimática en un momento que no es el indicado en el proceso de gelatinización del almidón. En este estudio se puede observar que se cumplió con el rango de temperatura óptimo y no representó una variable para evaluar el efecto de la adición de enzimas en la vida útil del producto final.

## **7.2. Controles durante el almacenamiento refrigerado**

### ***7.2.1. Análisis microbiológico***

Las muestras de marraqueta analizadas con un laboratorio externo para cuantificar la cantidad de mohos presente en cada una, en los días 0, 5 y 10, cumplieron lo definido en el RSA para los 3 puntos de análisis, asegurando la inocuidad de las muestras para la evaluación sensorial. Los resultados detallados se muestran en Anexo 7. Se obtuvieron resultados en el rango de 1 a 100 UFC.

El principal y más común deterioro microbiológico en el pan es el crecimiento de mohos. Luego le siguen el crecimiento de bacterias y levaduras. El crecimiento de mohos se da principalmente en la etapa de almacenamiento, siendo la especie *Penicillium spp* la principal (Benavidez, 2017).

### 7.2.2. Análisis de Actividad de agua (aw)

En la Figura 9 se muestra la evolución de la actividad de agua durante los 10 días de almacenamiento para los 7 ensayos en estudio.

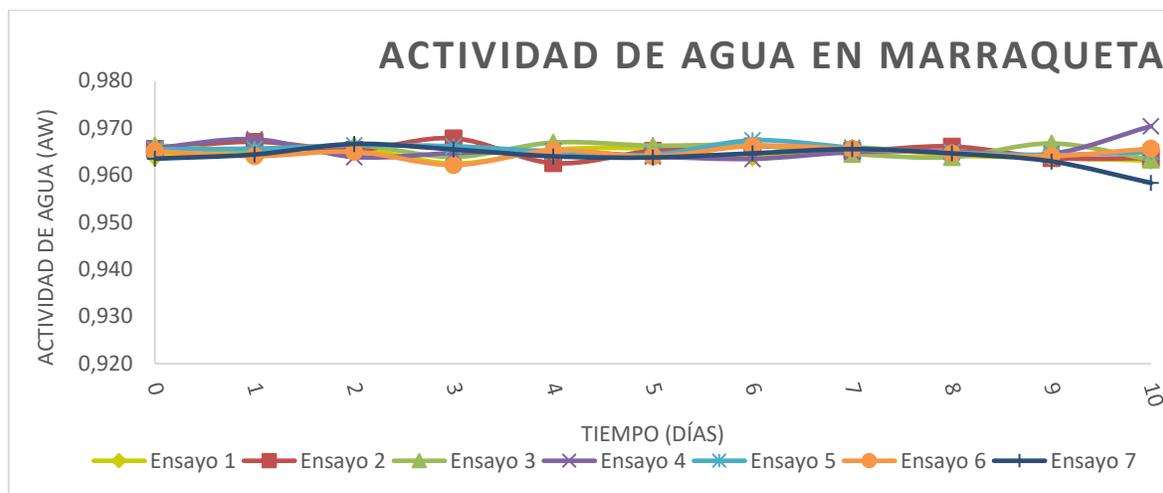


Figura 9 Evolución de Actividad de agua (aw) en pan marraqueta refrigerada por 10 días  
Ensayo 1: 0,003% XIL/0,1%MAL ; Ensayo 2: 0,003% XIL/0,1%MAL ; Ensayo 3: 0,005% XIL/0,2%MAL ; Ensayo 4: 0,003% XIL/0,1%MAL ; Ensayo 5: 0,0% XIL/0,2%MAL ; Ensayo 6: 0,005% XIL/0,0%MAL ; Ensayo 7 (Control): 0,0% XIL/0,0%MAL

Todos los ensayos mostraron valores de actividad de agua (aw) en el rango de 0,95 a 0,97, valore similares expuestos en otros ensayos a matrices de pan de molde (Guzmán, 2015). La bibliografía indica valor de actividad de agua en 0,96 para el pan blanco (Barbosa-Cánovas, 2007).

La actividad de agua es una propiedad intrínseca que cobra gran importancia en la predicción de la supervivencia de microorganismos influyendo directamente en la calidad y estabilidad de los alimentos. En el rango superior de aw (0,87-0,95), el producto se ve expuesto al crecimiento de la mayoría de las bacterias, hongos y levaduras (Barbosa-Cánovas, 2007).

Según lo que se puede visualizar en la Figura 9, la adición de enzimas xilanasas y/o amilasa maltogénica no generan un efecto beneficioso para reducir valores de aw y aminorar el crecimiento de microorganismos en el pan durante su almacenamiento. Es por esto por lo que se han realizado ensayos donde se sugiere revisar la

formulación base e incorporar ingredientes que ayuden a reducir el valor  $a_w$ , tales como fibra o inulina (Mello, 2014).

### 7.2.3. Control de pH

Los valores de pH obtenidos durante los 10 días del estudio a los diferentes 7 ensayos estuvieron en el rango, en general, de 5,77 y 5,86. El detalle se encuentra en Anexo 8. No se observaron diferencias significativas entre cada día y entre cada ensayo, por lo que se pueden entender que las enzimas adicionadas no alteran la acidez del pan durante el almacenamiento.

Según la información entregada por *Food Info*, el pan presenta un valor de pH de 5,3 a 5,8, valores similares a los obtenidos en el estudio.

## 7.3. Resultados del Diseño Experimental

### 7.3.1. Evaluación Diseño Experimental

En la Tabla 4 se representan los valores promedio de las respuestas del diseño experimental: firmeza de miga, elasticidad de miga, cohesividad de miga, daño mecánico, apariencia sensorial, olor, sabor y textura de miga sensorial para los 7 ensayos al día 10. Los valores se cargaron al software Statgraphic Centurion XVI, y se evaluó el diseño.

*Tabla 4 Respuestas de Diseño experimental al día 10 de almacenamiento refrigerado*

Ensayo	Xilanasas (codificada)	Amilasa Maltogénica (codificada)	Firmeza de miga	Elasticidad de miga	Cohesividad de miga	Apariencia	Olor	Sabor	Textura Sensorial	Daño Mecánico
1	0	0	156,2	0,948	0,728	4,25	4,88	4,625	4,50	13%
2	0	0	143,5	0,943	0,719	4,38	4,75	4,625	4,75	11%
3	1	1	120,8	0,958	0,765	5,63	5	5,25	5,88	16%
4	0	0	142,8	0,945	0,754	4,63	5	4,75	4,75	16%
5	-1	1	161,1	0,958	0,754	4,38	5,25	5	5,00	16%
6	1	-1	175,1	0,925	0,731	4,25	5,25	4,75	4,50	19%
7	-1	-1	216,5	0,917	0,678	4,00	4,88	4,75	3,50	29%

En la figura 10 se muestran los diagramas de Pareto para las respuestas con efecto significativo de al menos uno de los factores experimentales. El resto de las respuestas se muestran en Anexo 15.

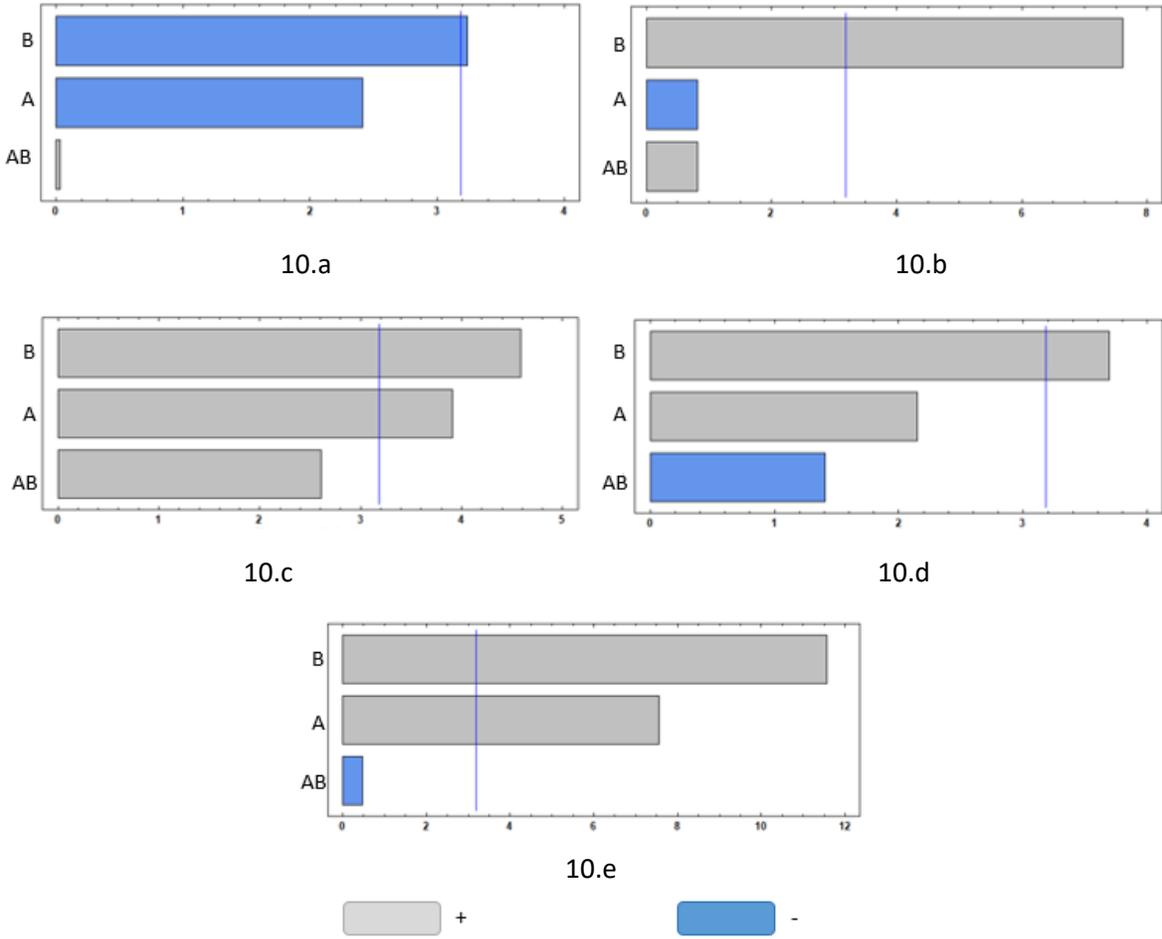


Figura 10 Diagramas de Pareto para respuestas de diseño experimental con efecto significativo. 10.a - Pareto para Firmeza de miga. 10.b - Pareto para elasticidad de miga. 10.c – Pareto para Cohesividad de miga. 10.d – Pareto para Apariencia Miga Sensorial. 10.e – Pareto para Textura Sensorial. B: Cantidad de Amilasa Maltogénica. A: Cantidad de Xilanasas

### 7.3.2. Análisis individual de Respuestas

#### 7.3.2.1. *Daño Mecánico en producto terminado*

Del análisis de esta respuesta bajo el método de superficie de respuesta se observó que el modelo ajustado predice sólo el 56% de la variabilidad para el daño mecánico y no se observó diferencia significativa (valor  $p > 0,05$ ) por lo que al no cumplir con los requisitos planteados no se consideró como respuesta para la evaluación del efecto de las enzimas en el estudio. El detalle se encuentra en Anexo 14. Al pasar los 10 días del estudio, todos los ensayos incrementaron el número de unidades aplastadas o dañadas mecánicamente por caja. En Anexo 9 se muestra el detalle de unidades aplastadas durante el estudio.

#### 7.3.2.2. *Textura Instrumental*

##### a. Firmeza

Según lo graficado en el diagrama de Pareto (Fig. 10.a) se aprecia que sólo la adición de amilasa maltogénica es significativamente influyente sobre la firmeza de miga, provocando una disminución en este criterio en el tiempo. Además, el modelo predice el 84% de la variabilidad de la respuesta firmeza de miga. Por lo tanto, la firmeza es considerada como respuesta influyente en la vida útil del pan. El detalle se ve en Anexo 14. En la figura 11 se muestra la evolución, para todos los ensayos en estudio, del valor de firmeza instrumental. El detalle de los valores se muestra en Anexo 10.

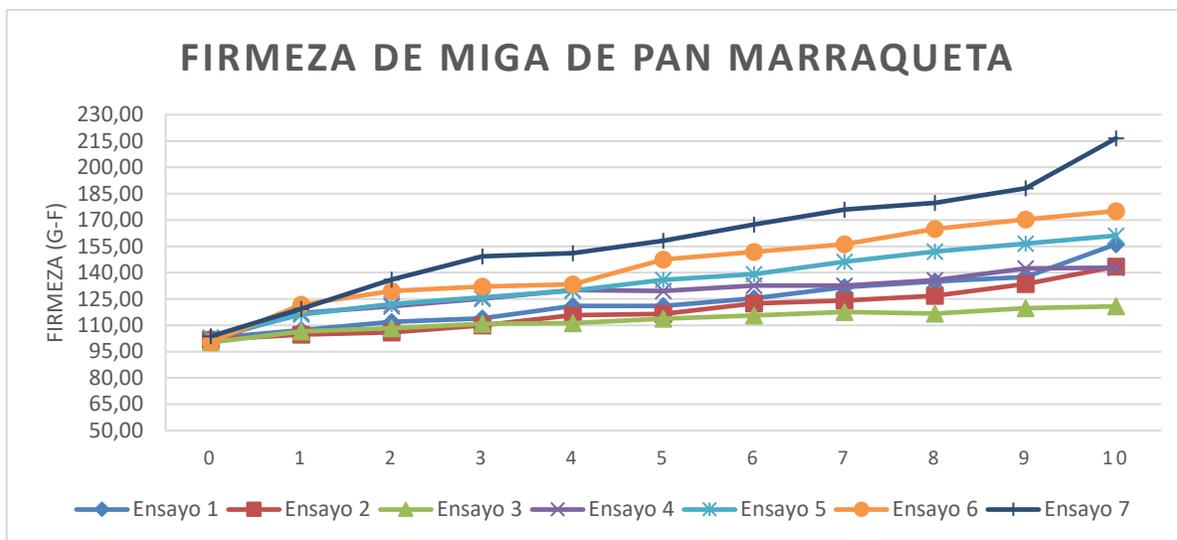


Figura 11 Firmeza de miga analizada, medida con texturómetro, de los distintos ensayos evaluados durante 10 días. Ensayo 1: 0,003% XIL/0,1%MAL ; Ensayo 2: 0,003% XIL/0,1%MAL ; Ensayo 3: 0,005% XIL/0,2%MAL ; Ensayo 4: 0,003% XIL/0,1%MAL ; Ensayo 5: 0,0% XIL/0,2%MAL ; Ensayo 6: 0,005% XIL/0,0%MAL ; Ensayo 7 (Control): 0,0% XIL/0,0%MAL

Las curvas reflejan una tendencia al alza en el valor de firmeza para todos los ensayos. A partir del día 4, se observa ya un alza más pronunciada para el ensayo sin enzimas respecto a los otros ensayos. Las gráficas muestran también, para el día 0, que independiente del contenido de enzima, la firmeza es similar.

Al día 10 de almacenamiento en refrigeración (final del estudio) se observa que el ensayo 7 que no tiene adición de enzimas termina con una firmeza de miga muy superior respecto al resto de ensayos que sí tienen dosificación de alguna o combinación de las enzimas. El ensayo que arrojó menor firmeza de miga culminados los 10 días fue el ensayo 3 (dosis máxima de xilanasa + dosis máxima de amilasa maltogénica) con un valor de 120,8 gF. Con este resultado se entiende que la presencia de enzimas genera un efecto en la conservación del producto en condiciones adversas como lo es la refrigeración, cuando de textura se refiere. *Haghighat-Kharazi y col.* -encapsularon amilasa maltogénica en cera de abejas y la aplicaron en formulación de pan. Los resultados del estudio mostraron que las muestras de pan encapsulado con enzimas tenían una dureza significativamente más baja y una calidad sensorial más alta que las muestras de control. En este

sentido, el tratamiento con enzimas genera un efecto positivo en la retrogradación del almidón retardando el envejecimiento del pan (Haghighat-Kharazi, 2018).

El ensayo que sólo contenía enzima xilanasa mostró una firmeza de miga menor respecto al control. La enzima xilanasa actúa a nivel de la columna vertebral de los arabinoxilanos, liberando agua y disminuyendo pentosanos insolubles en agua (Caballero, 2007). Existen otros estudios en pan donde aquel adicionado con xilanasa mostraron menores valores de firmeza que el control bajo condiciones de almacenamiento refrigerado ( $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) (Ghoshal, 2016).

Teniendo en consideración esta información y según lo expuesto en la Figura 11, la amilasa maltogénica tiene un efecto más influyente sobre la textura de la miga del pan que la enzima xilanasa, cuando ambas se adicionan en la máxima dosis recomendada por el proveedor.

#### *b. Elasticidad*

La adición de amilasa maltogénica es influyente de forma significativa de forma positiva, generando un efecto positivo en la elasticidad de la miga del pan marraqueta, al día 10 de almacenado en refrigeración (Fig. 10.b). Del análisis del diseño experimental, también se extrae que predice el 95% de la variabilidad de la respuesta elasticidad de miga. El detalle se ve en Anexo 14.

En la Figura 12 se muestra la curva de evolución de la elasticidad medida instrumentalmente en los distintos ensayos. En Anexo 11 se detallan los valores promedios y la presencia de diferencias significativas para cada día de todos los ensayos.

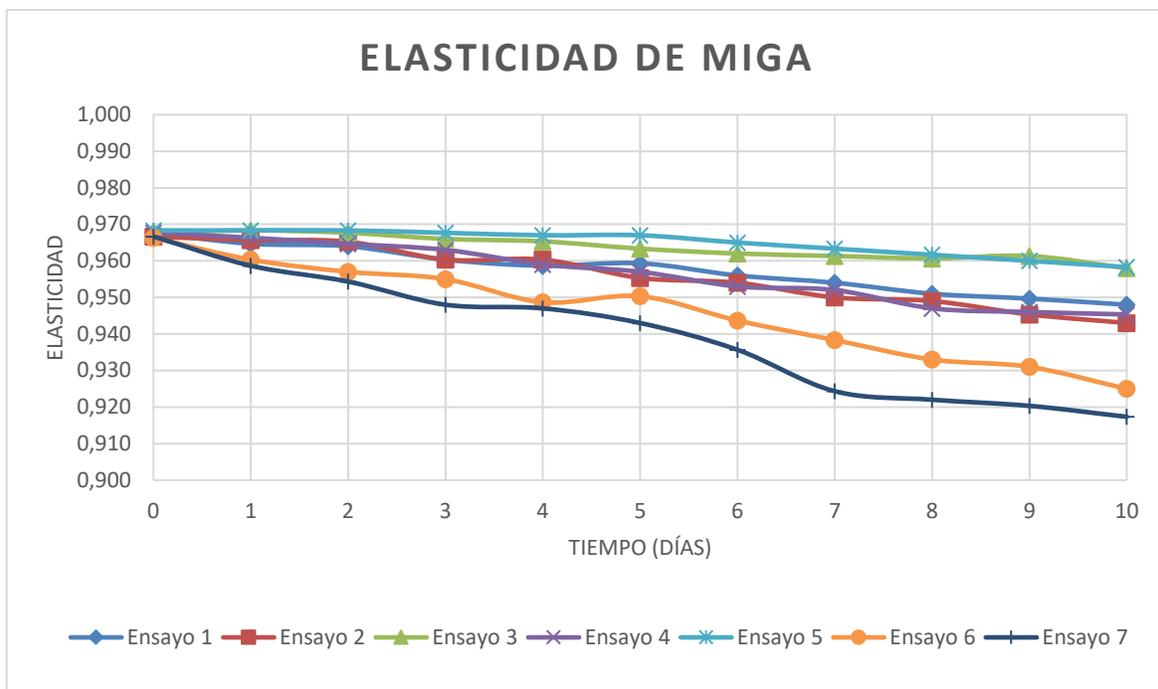


Figura 12 Elasticidad de miga instrumental medidos durante los 10 días de almacenamiento  
 Ensayo 1: 0,003% XIL/0,1%MAL ; Ensayo 2: 0,003% XIL/0,1%MAL ; Ensayo 3: 0,005% XIL/0,2%MAL ; Ensayo 4: 0,003% XIL/0,1%MAL ; Ensayo 5: 0,0% XIL/0,2%MAL ; Ensayo 6: 0,005% XIL/0,0%MAL ; Ensayo 7 (Control): 0,0% XIL/0,0%MAL

De la gráfica se puede apreciar que la medición inicial (día 0) son similares y se mantiene en el mismo nivel para los distintos ensayos, independiente de la presencia de enzimas. Ya avanzando en el tiempo de almacenamiento refrigerado se ve una tendencia a disminuir la elasticidad de manera más acelerada para el ensayo que no tiene enzimas respecto a los que si las tienen. Al día 10 del estudio se observó que el ensayo 3 y 5 disminuyeron su elasticidad de forma menos pronunciada, quedando bajo valores de 0,96 (el ensayo sin enzimas terminó con una elasticidad en torno a 0,92. En estudios similares, como el realizado por *Zhang y col.* (2021), se logró evidenciar que panes con presencia de amilasa maltogénica presentaron un valor de elasticidad más alto comparado con panes que no la tuvieron. Este análisis es similar al obtenido en el presente estudio.

Los resultados obtenidos y representados en la Figura 12 son coincidentes también con el ensayo realizado por *Shim & col.* (2020), donde durante 4 días de almacenamiento no obtuvieron diferencias significativas entre el control y la muestra

con amilasa maltogénica analizada, situación que también se presenta en este estudio hasta el día 2 y en el día 4 para gran parte de los ensayos.

Estos resultados explican el rol específico que tienen este tipo de amilasas en otorgar suavidad y mantener la elasticidad en niveles altos durante el almacenamiento (Zhang, 2021).

### c. Cohesividad

El modelo predice el 87% de la variabilidad de la respuesta cohesividad de miga, mostrando un efecto significativo del factor de enzima amilasa maltogénica (valor  $p < 0,05$ ). El detalle se ve en Anexo 14.

En la Figura 13 se muestran las curvas de evolución en el parámetro de cohesividad para cada ensayo en estudio.

El ensayo 7 (ensayo sin enzimas) presentó una disminución en el valor de cohesividad correspondiente al 16% pasados los 10 días de almacenamiento en refrigeración, siendo el ensayo con la mayor pérdida.

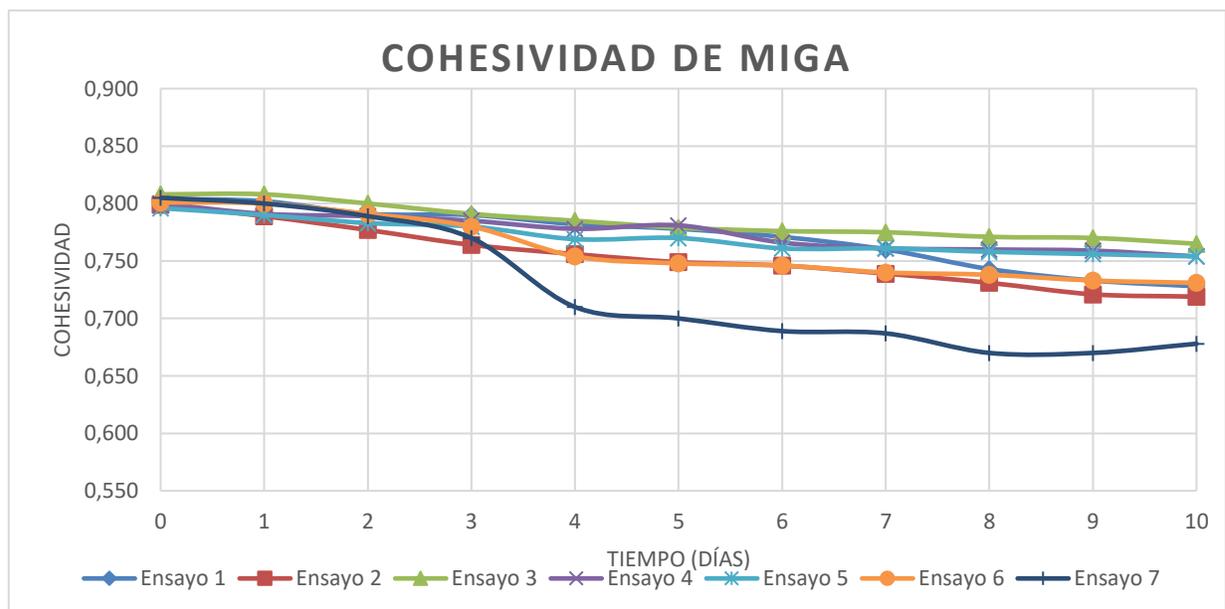


Figura 13 Evolución de la cohesividad de miga durante 10 días de almacenamiento en refrigeración Ensayo 1: 0,003% XIL/0,1%MAL ; Ensayo 2: 0,003% XIL/0,1%MAL ; Ensayo 3: 0,005% XIL/0,2%MAL ; Ensayo 4: 0,003% XIL/0,1%MAL ; Ensayo 5: 0,0% XIL/0,2%MAL ; Ensayo 6: 0,005% XIL/0,0%MAL ; Ensayo 7 (Control): 0,0% XIL/0,0%MAL

Los ensayos 3 (mayor dosis de xilanas y amilasa maltogénica) y ensayo 5 (mayor dosis de amilasa maltogénica) fueron los que presentaron mejor comportamiento en la medición, con la menor disminución de cohesividad (5,3%). Esta diferencia respecto al ensayo 7 puede explicar el efecto beneficioso de las enzimas en la formulación, manteniendo de mejor manera la estructura del pan. Otros autores han demostrado que la adición de enzimas como amilasas maltogénica genera un positivo efecto, ralentizando la cohesión de la miga del pan (Caballero, 2007). El detalle de los valores de cohesividad se muestran en Anexo 12.

Gianonne *et al.* (2016) encontraron que la cohesividad del pan ésta relacionada con el grado de integración de los componentes de la harina en la matriz de la masa. La disminución en los valores de cohesividad se deben a que se genera una pérdida en la atracción intermolecular de los ingredientes, la pérdida de agua y la tendencia a desmigarse debido al añejamiento (Gianonne, 2016).

En la Figura 13 se puede apreciar que lo afirmado por *Esteller y col.* se mantiene en las marraquetas estudiadas bajo condiciones de refrigeración, es decir, el envejecimiento del pan en el tiempo provocó una disminución en la cohesividad medida de forma analítica. También con la adición de otros aditivos se vio reflejado el mismo escenario, disminuyendo la cohesividad de las muestras (Barbosa-Ríos, 2018).

#### 7.3.2.3. *Evaluación Sensorial*

Entre los 8 jueces que compusieron el panel entrenado no existieron diferencias significativas con un 95% de confianza, para cada atributo y en cada día de análisis.

Entre los atributos evaluados, apariencia y textura presentaron un ajuste superior al 75%, mostrando también un efecto significativo ( $p < 0,05$ ). Los atributos de olor y sabor no tuvieron un buen ajuste y por lo tanto, no se consideraron significativos en la evaluación del diseño (detalle se muestra en Anexo 13 y 14).

### a. Apariencia

El modelo predijo el 93% de la variabilidad respecto a la apariencia del pan marraqueta evaluada al día 10. Además, existieron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para este atributo. Por lo tanto, la apariencia sí se ve afectada por la adición de enzimas en el producto almacenado en condición de refrigeración. El detalle se ve en Anexo 14.

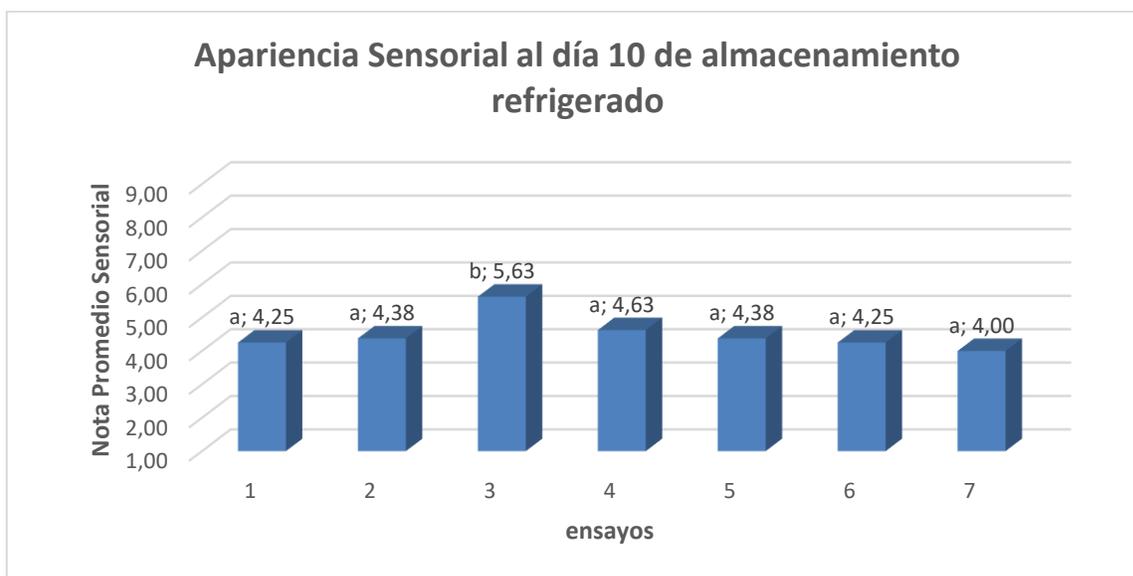


Figura 14 Promedio evaluación sensorial para Atributo Apariencia. Letras distintas indican diferencias significativas entre ensayos ( $p < 0,05$ )

El ensayo 3 (máxima dosis de amilasa maltogénica y máxima dosis de xilanasas) fue el ensayo mejor evaluado por el panel con una nota final de 5,63, siendo significativamente distinto al resto de los ensayos. El detalle estadístico se muestra en Anexo 13.

En la Figura 14 se muestra la evaluación promedio de apariencia que obtuvo cada ensayo. En estudio similar con adición de ambas enzimas, realizado por Giménez y col. (2007), aplicado a consumidores se vio que la mezcla de ambas enzimas obtiene mejores resultados que la adición solamente de amilasa, extendiendo la vida útil del pan, pasando de 10 a 16 días. Se han estudiado algunos efectos sinérgicos de las enzimas para masas de panificación, extendiendo la vida útil.

## b. Textura

El modelo predijo el 98% de la variabilidad presente entre los ensayos para el atributo de textura evaluado por el panel. Además, se encontraron diferencias significativas entre los ensayos respecto a la adición de amilasa maltogénica y xilanasa de forma independiente. El detalle se ve en Anexo 14.

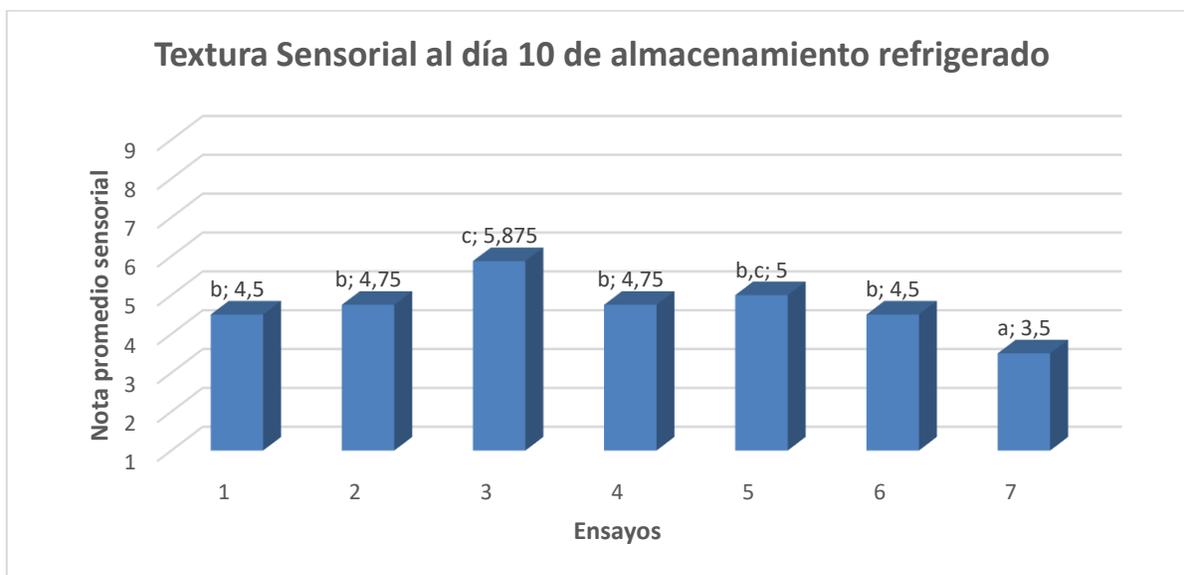


Figura 15 Promedio evaluación sensorial para Atributo Textura. Letras distintas indican diferencias significativas entre ensayos ( $p < 0,05$ )

En la Figura 15 se muestra la calificación promedio que fue otorgada a cada ensayo por parte del panel. Los ensayos 3 y 5 fueron los mejores evaluados por los panelistas entrenados (5,875 y 5, respectivamente), siendo significativamente diferentes al resto de los ensayos. Estos resultados reafirman el importante rol de la amilasa maltogénica para retardar la retrogradación del almidón, principalmente de la amilopectina, aportando de manera significativa en la vida útil del pan marraqueta almacenada en refrigeración. (Caballero, 2007). El detalle se aprecia en Anexo 13.

En general, bajo lo revisado con los diferentes análisis, se pudo apreciar el significativo aporte de las enzimas sobre atributos del producto que determinan su vida útil bajo condiciones de almacenamiento desfavorables como lo es la

refrigeración, consiguiéndose estos resultados con dos vías enzimáticas que actúan a diferentes niveles de la estructura química de la masa panaria.

Principalmente, la amilasa maltogénica juega un rol interesante en la retrogradación del almidón, modificando la fracción de amilosa y amilopectina y así evitar un envejecimiento prematuro del pan (Reategui, 2009). En cuanto a la xilanasas, si bien aún está en una etapa de profundización respecto a su potencial sobre el envejecimiento del pan. Ellas, a través de su mecanismo de acción, provocan solubilización de fracciones que al comienzo se presentan como insolubles, mejorando la capacidad de retener agua para la masa, y disminuyendo la velocidad de difusión del CO<sub>2</sub>, estabilizando la celda de gas y generando una mejora en la firmeza y textura del pan (Rocca, 2011).

## 8. Conclusiones

- Se hizo el control de la temperatura, pH de la masa, así como también el microbiológico del pan marraqueta durante los 10 días de almacenamiento refrigerado, manteniéndose estables y dentro de lo establecido por Bredenmaster y RSA, por lo tanto, no fueron condicionantes en el estudio.
- Se realizaron controles fisicoquímicos al producto terminado durante los 10 días de almacenamiento refrigerado, donde el contenido de agua libre, o actividad de agua (aw), no tuvo cambios significativos para todos los ensayos durante el transcurso del tiempo. El pH del pan marraqueta durante los 10 días de estudio resultó en valores estándar para este tipo de productos, descartándose un efecto de la adición de enzimas sobre este parámetro.
- Se evaluó, mediante un diseño experimental factorial, el efecto de la adición de enzima xilanasa y/o amilasa maltogénica en atributos de calidad de producto. Las respuestas firmeza, elasticidad, cohesividad, apariencia y textura sensorial se vieron afectadas de forma significativa por la adición de amilasa maltogénica y xilanasa en la formulación.
- La acción de las enzimas amilasa maltogénica y xilanasa lograron generar un efecto significativamente positivo sobre la calidad del pan marraqueta almacenado en condiciones de refrigeración, por lo que se da por aceptada la hipótesis del estudio.

## 9. Referencias

ALFA GROUP. El pan: un alimento milenario. [En Línea] <<https://alfagroup.cl/el-pan-un-alimento-milenario/>> [Consulta: noviembre, 2021].

BARBOSA-CÁNOVAS, G. (2007). Water Activity in Foods. Fundamentals and Applications. Estados Unidos. Blackwell Publishing. 240p

BENAVIDES, V. 2017. Determinación del umbral de diferencia del sabor salado en pan blanco de molde y su efecto sobre la calidad durante el almacenamiento. Memoria de Licenciatura e Ingeniería de Alimentos. San José, Universidad de Costa Rica, Facultad de Ciencias Agroalimentarias. 16p.

BUSTAMANTE, B. 2011. Caracterización Óptima de una masa de panificación fermentada en polvo. Informe final de investigación. Universidad Nacional del Callao, Facultad de Ingeniería pesquera y de alimentos. 10p

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

CABALLERO, 2007. Improvement of dough rheology, bread quality and bread shelf-life by enzymes combination. Journal of Food Engineering 81: 42-53.

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

CASTRO, E. 2007. Parámetros mecánicos y textura de los alimentos. Capítulo I. El cuerpo elástico. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. 14p.

DEIVE, F. y Sanromán, M. 2017. Food Enzymes. Chapter 5. En: Current Developments in Biotechnology and Bioengineering. Vigo. University of Vigo. 119-142.

GARCÍA, G. 2012. Texturometría Instrumental: Puesta a punto y aplicación a la Tecnología de Alimentos. Proyecto Fin de Master. Oviedo, Universidad de Oviedo. 11p.

GHOSHAL, G. 2016. Thermo-mechanical and micro-structural properties of xylanase containing whole wheat bread. Food Science and Human Wellness 5: 219-229.

GIANNONE, V. 2016. A novel  $\alpha$ -amylase-lipase formulation as anti-staling agente in durum wheat bread. LWT-Food Science and Technology 65: 381-389.

GIMÉNEZ, A., VARELA, P., SALVADOR, A. 2007. Shelf life estimation of Brown pan bread: A consumer approach. Food Quality and Preference 18. 196-204p

GUZMÁN, M. 2015. Formulación y caracterización de pan de molde con adición de un ingrediente funcional proveniente de subproducto de la agroindustria. Memoria de Título de Ingeniería Agrónoma. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. 11p.

HAGHIGHAT-KHARAZI, S. 2018. Microencapsulation of  $\alpha$ -amylase in beeswax and its application in gluten-free bread as anti-staling agent. LWT-Food Science and Technology 92: 73-79.

HERNÁNDEZ, 2016. Efecto sobre las propiedades reológicas y panificables de la enzima transglutaminasa en masas con almidón de yuca (*Manihot esculenta*). RIDTEC Vol. 12. Universidad Tecnológica de Panamá, Facultad de Ciencias y Tecnología. 56-67p.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS. 2019. VIII Encuesta de Presupuestos Familiares (EPF).

KARIM, A., NORZIAH, M., SEOW, C. 2000. Methods for the study of starch retrogradation. Review. Food Chemistry 71: 9-36

LEMLIOGLU, D. 2017. Chapter 10. Enzymes: Extending Shelf Life and eating Quality of Tortillas. En: ROONEY, L. W. Tortillas Wheat Flour and Corn Products. USA. 201-214.

LUNA-FERNÁNDEZ, M. 2011. Envejecimiento del pan: causas y soluciones. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 5-2: 40-53

MATOS, L. 2020. Estudio de los efectos de tres formulaciones diferentes de panes: cambios en su vida útil. Memoria de Título de grado de Farmacéutica. Córdoba, Universidad Católica de Córdoba, Facultad de Ciencias Químicas. 14p.

MELLO, P., STEEL, C. 2014. Physicochemical and sensory characteristics of pan bread samples available in the Brazilian market. Food Science and Technology 34(4): 746-754.

MESAS, J., ALEGRE, M. 2002. El pan y su proceso de elaboración. Ciencia y Tecnología Alimentaria 3: 307-313.

MINSAL, 2011. Reglamento Sanitario de los Alimentos. DTO. N° 977/96. Título XV De Los Alimentos farináceos. 123-124p.

MONTGOMERY, D. 2004. Diseño y Análisis de Experimentos. Segunda Edición. Limusa Wiley.

MONTIEL, A. 2008. Nuevas tendencias en panificación. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 2: 1-7

MORALES. I. (2009). Vida Útil de alimentos. Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica.

NORMAHOMED, I. 2005. Título I Tecnología de la panificación. Cuarta Edición. Sabadell University. 14-15p

NOSHIRVANI, N., GHANBARZADEH, B., MOKARRAM, R. 2017. Novel active packaging base don carboxymethyl cellulose-chitosan – ZnO NPs nanocomposite for increasing the shelf life of bread. *Food Packgaing and Shelf Life*. 106-114p.

OLMEDO, F. 1964. Papel de la Fermentación en la fabricación del pan. *Sección Técnica*. 13-15p.

PASQUALONE, A. 2017. Shelf life assessment of industrial durum wheat bread as a function of packaging system. *Food Chemistry* 224: 181-190.

PLAZA, C. 2015. Reducción del contenido de acrilamida en pan tipo hallulla mediante la incorporación de asparaginasa. Memoria para título de ingeniería en alimentos. Santiago. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. 10p

REATEGUI, M. Enzimas para la panificación. Estado del arte. Memoria para título de Ingeniero en industrias alimentarias. Iquitos. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

REVELADOR análisis de Fundación Chile. Competitividad Panadera. 2017. Indupan.

RIBOTTA, P. y TADINI, C. 2009. Alternativas tecnológicas para la elaboración y la conservación de productos panificados. Córdoba. Universidad Nacional de Córdoba. 17p.

ROCCIA, R. 2011. Uso de enzimas y oxidantes en productos de panificación fortificados. Estudio de las propiedades fisicoquímicas y funcionales. Memoria para título doctoral. Universidad Nacional De La Plata. 13p.

RUAN, Y., XU, Y., ZHANG, W., ZHANG, R. 2021. A new maltogenic amylase from *Bacillus licheniformis* R-53 significantly improves bread quality and extends shelf life. *Food Chemistry* 344, 1-9p.

SHIM, J. 2020. Effects of maltogenic amylase from *Lactobacillus plantarum* on retrogradation of bread. *Journal of Cereal Science* 93: 1-6p

STEFFOLANI, M. 2010. Efecto de las enzimas pentosanasa, glucosa oxidasa y transglutaminasa en productos de panificación. Memoria para título Docutorial. Universidad Nacional De La Plata, Facultad de Ciencias Exactas. 28p

TAHIR-NADEEM, M. 2007. Xylanases and their applications in baking industry. *Food Technol. Biotechnol. Review*. 24p

THYBO, A. 2011. Antioxidants and shelf life of whole wheat bread. *Journal of Cereal Science* 53: 291-297.

TEJERO, F. La levadura en la panadería. Asesorías Técnica en panificación. [En Línea] < <http://www.franciscotejero.com/tecnicas/la-levadura-en-la-panaderia/>> (Consultado: 10/08/2021).

TEJERO, F. Los mejorantes en panificación. [En Línea] <<http://www.franciscotejero.com/tecnicas/los-mejorantes-en-panificacion/>> [Consultado: 28/08/2021)

TORRES, J., CORREA, D., GONZÁLEZ-MORELO, K. 2014. Análisis del perfil de textura en frutas, productos cárnicos y quesos. *Revista Recitala*. 67p.

VERGARA, P. 2011. Efecto de la adición de enzima transglutaminasa en el desarrollo de pan a base de harina de quínoa (*Chenopodium quinoa Willd*). Memoria para título de Ingeniería en Alimentos. Santiago. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. 22-23p

WHITEHURST, R. y LAW, B. 2002. *Enzymes in food technology*. Sheffield Academic Press.

ZHANG, R. 2021. A new maltogenic amylase from *Bacillus licheniformis* R-53 significantly improves bread quality and extends shelf life. *Food Chemistry* 344: 1-9

ZHOU, W. y SELOMULYO, V. 2007. Frozen bread dough: Effects of freezing storage and dough improvers. *Journal of Cereal Science* 45: 1-17

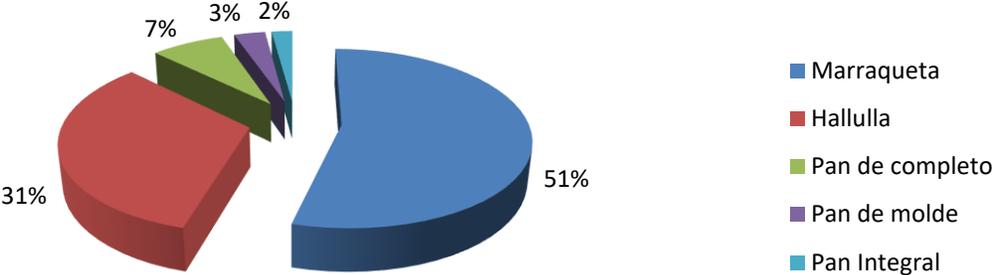
## 10. Anexos

Anexo 1. Valores promedio de consumos de distintos productos per cápita

Productos	Unidades	Años										
		2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Carnes	kg/hab	70,8	73,7	75,0	79,0	81,0	81,2	79,1	81,9	84,7	87,2	89,1
Productos lácteos	lt/hab	125,2	119,4	123,6	129,4	126,0	132,2	126,1	132,3	138,9	146,1	146,5
Huevos	unid./hab	142,9	148,5	155,5	151,1	165,3	167,0	167,9	166,7	173,3	176,9	173,7
Azúcar	kg/hab	32,0	38,8	39,1	33,9	46,5	36,3	43,3	39,9	45,5	43,8	37,9
Papa	kg/hab	57,4	58,4	58,1	70,8	43,2	50,4	49,1	57,0	78,5	59,3	64,1
Leguminosas	kg/hab	4,2	4,5	4,0	4,9	3,0	3,4	3,4	3,3	3,0	2,5	3,3
Manzana	kg/hab	11,0	11,8	12,1	13,4	14,4	13,6	12,7	14,3	13,7	13,1	14,0
<b>Pan</b>	<b>kg/hab</b>	<b>86,0</b>	<b>87,0</b>	<b>87,0</b>	<b>86,0</b>	<b>87,0</b>	<b>87,0</b>	<b>85,0</b>	<b>86,0</b>	<b>87,0</b>	<b>87,0</b>	<b>86,0</b>
Arroz	kg/hab	14,2	10,4	10,4	12,6	11,1	12,1	11,8	10,0	11,1	12,7	11,3

Anexo 2. Distribución de ventas de tipos de pan en Chile

**Distribución de ventas de tipos de pan en Chile**



*Fechipan, 2017*

### Anexo 3. Composición química de harina de trigo

Componentes	Composición *
Humedad (g)	13,36
Proteínas (g)	11,98
Grasa (g)	1,66
Hidratos de carbono (g)	72,53
Fibra (g)	2,40
Cenizas (g)	0,47

*Composición de cada componente en 100 g de harina de trigo*

Anexo 4. Características de algunas xilanasas producidas por diferentes microorganismos.

Microorganism	Molecular mass/ kDa	Optimum pH	Optimum temperature/°C	Reference
<i>Acrophialophora nainiana</i>	22	7.0	55	(30)
<i>Aspergillus awamori</i>	39	5.5–6.0	40–55	(31)
<i>Aspergillus nidulans</i>	34	6.0	56	(32)
<i>Aspergillus nidulans</i> KK-99	nd	8.0	55	(33)
<i>Aspergillus oryzae</i>	35	5.0	60	(34)
<i>Aspergillus sojae</i>	32.7	5.0–5.5	50–60	(35)
<i>Aspergillus terreus</i>	nd	7.0	50	(36)
<i>Aspergillus terreus</i>	nd	4.5	45	(37)
<i>Myceliophthora</i> sp.	53	6.0	75	(38)
<i>Penicillium capsulatum</i>	22	3.48	48	(39)
<i>Streptomyces</i> sp.	24.5, 37.5, 38	6.0–8.0	55–60	(40)
<i>Thermomyces lanuginosus</i>	24.7	6.0–6.5	70	(41)
<i>Trichoderma harzianum</i>	20	5.0	50	(42)
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	37.7	5.0–6.0	45	(43)
<i>Trichoderma viride</i>	22	5.0	53	(44)

nd=not determined

Anexo 5: Perfil de medición de miga en Marraqueta.

Parámetro	Valor
Sonda a utilizar (código)	670159
Altura de muestra	25 mm
Distancia de comienzo de test desde muestra	5 mm
Numero de ciclos	2
Compresión	20 %
Pausa	15 s
Velocidad inicial	1 mm/s
Velocidad de aplicación	1 mm/s
Fuerza de aplicación	5 g

Anexo 6. Valores de pH obtenidos como control del proceso de elaboración.

<i>Ensayos</i>	<i>Valor pH</i>
<i>Ensayo 1</i>	5,96
<i>Ensayo 2</i>	6,01
<i>Ensayo 3</i>	5,98
<i>Ensayo 4</i>	6,00
<i>Ensayo 5</i>	5,91
<i>Ensayo 6</i>	5,93
<i>Ensayo 7</i>	5,99

## Anexo 7: Detalle de recuento de Mohos en el pan

<i>Ensayo</i>	<i>Día 0</i>	<i>Día 5</i>	<i>Día 10</i>
<i>Ensayo 1</i>	<10	<10	<100
<i>Ensayo 2</i>	<10	<10	<100
<i>Ensayo 3</i>	<10	<10	100
<i>Ensayo 4</i>	<10	<10	<100
<i>Ensayo 5</i>	<10	<10	<100
<i>Ensayo 6</i>	<10	<10	100
<i>Ensayo 7</i>	<10	<10	100

## Anexo 8: Valores de pH durante los días de almacenamiento

<i>Ensayo</i>	<i>Día 0</i>	<i>Día 1</i>	<i>Día 2</i>	<i>Día 3</i>	<i>Día 4</i>	<i>Día 5</i>	<i>Día 6</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 8</i>	<i>Día 9</i>	<i>Día 10</i>
<i>Ensayo 1</i>	5,88	5,86	5,85	5,84	5,82	5,80	5,80	5,79	5,80	5,80	5,79
<i>Ensayo 2</i>	5,87	5,85	5,82	5,81	5,80	5,79	5,77	5,80	5,79	5,78	5,79
<i>Ensayo 3</i>	5,87	5,84	5,79	5,79	5,78	5,77	5,80	5,79	5,79	5,78	5,77
<i>Ensayo 4</i>	5,89	5,85	5,82	5,81	5,79	5,78	5,79	5,79	5,81	5,79	5,78
<i>Ensayo 5</i>	5,86	5,84	5,82	5,82	5,80	5,79	5,80	5,80	5,80	5,79	5,80
<i>Ensayo 6</i>	5,90	5,86	5,82	5,81	5,79	5,79	5,80	5,80	5,78	5,80	5,81
<i>Ensayo 7</i>	5,83	5,85	5,79	5,79	5,80	5,78	5,81	5,78	5,79	5,78	5,81

Anexo 9: Porcentaje de producto con daño mecánico (aplastamiento)

<i>Ensayos</i>	<i>Dia 1</i>	<i>Dia 2</i>	<i>Dia 3</i>	<i>Dia 4</i>	<i>Dia 5</i>	<i>Dia 6</i>	<i>Dia 7</i>	<i>Dia 8</i>	<i>Dia 9</i>	<i>Dia 10</i>
<i>Ensayo 1</i>	0%	1%	3%	5%	5%	7%	7%	9%	10%	13%
<i>Ensayo 2</i>	0%	0%	3%	3%	3%	8%	10%	10%	11%	11%
<i>Ensayo 3</i>	0%	0%	0%	1%	2%	2%	2%	5%	6%	8%
<i>Ensayo 4</i>	0%	1%	3%	5%	5%	8%	9%	10%	15%	13%
<i>Ensayo 5</i>	0%	0%	6%	4%	7%	8%	10%	11%	13%	16%
<i>Ensayo 6</i>	0%	1%	8%	9%	10%	13%	14%	14%	15%	17%
<i>Ensayo 7</i>	0%	3%	10%	13%	16%	23%	25%	25%	26%	31%

*Anexo 10 Valores de firmeza de miga durante almacenamiento en refrigeración*

	Día 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8	Día 10
Ensayo 1	102,7±7,3 <sup>(a)</sup>	113,0±8,8 <sup>(a)</sup>	118,6±9,6 <sup>(a)</sup>	124,8±9,7 <sup>(a)</sup>	134,9±10,5 <sup>(a)</sup>	156,2±10,0 <sup>(a)</sup>
Ensayo 2	101,8±8,0 <sup>(a)</sup>	105,9±9,2 <sup>(a)</sup>	115,7±7,3 <sup>(a)</sup>	122,4±7,5 <sup>(a,b)</sup>	126,8±9,5 <sup>(a,b)</sup>	143,5±10,0 <sup>(a,b)</sup>
Ensayo 3	100,3±8,5 <sup>(a)</sup>	108,4±7,9 <sup>(a)</sup>	111,2±9,3 <sup>(a)</sup>	115,6±8,9 <sup>(a,b)</sup>	116,7±12,8 <sup>(b)</sup>	120,8±8,1 <sup>(b)</sup>
Ensayo 4	102,1±6,4 <sup>(a)</sup>	120,9±9,5 <sup>(b)</sup>	130,2±13,2 <sup>(b)</sup>	132,6±28,8 <sup>(b,c)</sup>	135,7±9,4 <sup>(b)</sup>	142,8±6,5 <sup>(b)</sup>
Ensayo 5	103,1±7,0 <sup>(a)</sup>	122,1±10,6 <sup>(b)</sup>	129,7±12,0 <sup>(b)</sup>	139,2±16,7 <sup>(c)</sup>	151,9±14,4 <sup>(c)</sup>	161,1±10,5 <sup>(c)</sup>
Ensayo 6	100,4±7,7 <sup>(a)</sup>	129,6±10,1 <sup>(c)</sup>	133,3±9,3 <sup>(b)</sup>	151,9±11,7 <sup>(d)</sup>	165,3±17,1 <sup>(d)</sup>	175,1±9,9 <sup>(d)</sup>
Ensayo 7	103,7±7,8 <sup>(a)</sup>	119,3±8,6 <sup>(c)</sup>	151,1±11,1 <sup>(c)</sup>	167,4±12,3 <sup>(e)</sup>	179,8±17,9 <sup>(e)</sup>	216,53±14,3 <sup>(e)</sup>

(\*) superíndices con letras distintas representan diferencias significativas entre los días

*Anexo 11 Valores de elasticidad de miga durante almacenamiento en refrigeración.*

	Día 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8	Día 10
Ensayo 1	0,968±0,011 <sup>(a)</sup>	0,964±0,020 <sup>(a)</sup>	0,959±0,019 <sup>(a,b)</sup>	0,956±0,012 <sup>(b,c)</sup>	0,951±0,012 <sup>(b,c)</sup>	0,948±0,019 <sup>(c)</sup>
Ensayo 2	0,967±0,032 <sup>(a)</sup>	0,965±0,021 <sup>(a)</sup>	0,960±0,019 <sup>(a,b)</sup>	0,954±0,012 <sup>(b,c)</sup>	0,949±0,014 <sup>(b,c)</sup>	0,943±0,021 <sup>(b,c)</sup>
Ensayo 3	0,968±0,028 <sup>(a)</sup>	0,968±0,030 <sup>(a)</sup>	0,965±0,015 <sup>(b)</sup>	0,962±0,013 <sup>(c)</sup>	0,961±0,012 <sup>(c)</sup>	0,958±0,022 <sup>(c)</sup>
Ensayo 4	0,968±0,041 <sup>(a)</sup>	0,965±0,034 <sup>(a)</sup>	0,959±0,013 <sup>(a,b)</sup>	0,953±0,011 <sup>(b,c)</sup>	0,947±0,018 <sup>(b,c)</sup>	0,945±0,024 <sup>(c)</sup>
Ensayo 5	0,968±0,047 <sup>(a)</sup>	0,968±0,048 <sup>(a)</sup>	0,967±0,027 <sup>(b)</sup>	0,965±0,025 <sup>(c)</sup>	0,962±0,011 <sup>(c)</sup>	0,958±0,020 <sup>(c)</sup>
Ensayo 6	0,966±0,028 <sup>(a)</sup>	0,957±0,010 <sup>(a)</sup>	0,949±0,008 <sup>(a)</sup>	0,944±0,027 <sup>(a,b)</sup>	0,933±0,036 <sup>(a,b)</sup>	0,925±0,028 <sup>(a,b)</sup>
Ensayo 7	0,967±0,036 <sup>(a)</sup>	0,954±0,016 <sup>(a)</sup>	0,947±0,023 <sup>(a)</sup>	0,936±0,033 <sup>(a)</sup>	0,922±0,046 <sup>(a)</sup>	0,917±0,041 <sup>(a)</sup>

(\*) superíndices con letras distintas representan diferencias significativas entre los días

*Anexo 12 Valores de cohesividad de miga durante almacenamiento en refrigeración*

	Día 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8	Día 10
Ensayo 1	0,804±0,004 <sup>(a)</sup>	0,791±0,016 <sup>(a,b)</sup>	0,782±0,018 <sup>(b,c)</sup>	0,771±0,026 <sup>(c)</sup>	0,743±0,028 <sup>(b,c)</sup>	0,728±0,029 <sup>(b)</sup>
Ensayo 2	0,799±0,009 <sup>(a)</sup>	0,777±0,024 <sup>(a)</sup>	0,756±0,020 <sup>(b)</sup>	0,746±0,021 <sup>(b)</sup>	0,731±0,021 <sup>(b)</sup>	0,719±0,038 <sup>(b)</sup>
Ensayo 3	0,808±0,023 <sup>(a)</sup>	0,800±0,020 <sup>(b)</sup>	0,785±0,017 <sup>(d)</sup>	0,776±0,021 <sup>(c)</sup>	0,771±0,021 <sup>(d)</sup>	0,765±0,023 <sup>(c)</sup>
Ensayo 4	0,800±0,016 <sup>(a)</sup>	0,789±0,017 <sup>(a,b)</sup>	0,778±0,014 <sup>(c,d)</sup>	0,766±0,026 <sup>(c)</sup>	0,760±0,024 <sup>(c,d)</sup>	0,754±0,027 <sup>(c)</sup>
Ensayo 5	0,796±0,018 <sup>(a)</sup>	0,783±0,021 <sup>(a)</sup>	0,769±0,018 <sup>(b,c)</sup>	0,761±0,016 <sup>(b,c)</sup>	0,758±0,022 <sup>(c,d)</sup>	0,754±0,024 <sup>(c)</sup>
Ensayo 6	0,801±0,016 <sup>(a)</sup>	0,791±0,022 <sup>(a,b)</sup>	0,754±0,025 <sup>(b)</sup>	0,746±0,026 <sup>(b)</sup>	0,738±0,030 <sup>(b)</sup>	0,731±0,027 <sup>(b)</sup>
Ensayo 7	0,805±0,020 <sup>(a)</sup>	0,789±0,015 <sup>(a,b)</sup>	0,710±0,030 <sup>(a)</sup>	0,689±0,023 <sup>(a)</sup>	0,670±0,030 <sup>(a)</sup>	0,678±0,035 <sup>(a)</sup>

(\*) superíndices con letras distintas representan diferencias significativas entre los días

## Anexo 13. Resultados estadísticos de evaluación sensorial

### a) Día 0

- Apariencia

#### Análisis de Varianza para Apariencia - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Juez	1,07143	7	0,153061	0,54	0,8000
B:Ensayo	0,357143	6	0,0595238	0,21	0,9718
RESIDUOS	11,9286	42	0,284014		
TOTAL (CORREGIDO)	13,3571	55			

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

#### Pruebas de Múltiple Rangos para Apariencia por Ensayo

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

Ensayo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
6	8	8,5	0,188419	x
2	8	8,5	0,188419	x
3	8	8,625	0,188419	x
5	8	8,625	0,188419	x
4	8	8,625	0,188419	x
7	8	8,625	0,188419	x
1	8	8,75	0,188419	x

- Olor

#### Análisis de Varianza para Olor - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Juez	0,785714	7	0,112245	0,41	0,8899
B:Ensayo	1,10714	6	0,184524	0,68	0,6696
RESIDUOS	11,4643	42	0,272959		
TOTAL (CORREGIDO)	13,3571	55			

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

#### Pruebas de Múltiple Rangos para Olor por Ensayo

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

Ensayo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
7	8	8,375	0,184716	x
5	8	8,5	0,184716	x
3	8	8,625	0,184716	x
4	8	8,625	0,184716	x
6	8	8,625	0,184716	x
2	8	8,625	0,184716	x
1	8	8,875	0,184716	x

- Sabor

**Análisis de Varianza para Sabor - 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	0,857143	7	0,122449	0,44	0,8701
B:Ensayo	0,928571	6	0,154762	0,56	0,7608
RESIDUOS	11,6429	42	0,277211		
TOTAL (CORREGIDO)	13,4286	55			

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

**Pruebas de Múltiple Rangos para Sabor por Ensayo**

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Ensayo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
7	8	8,125	0,186149	x
3	8	8,125	0,186149	x
6	8	8,25	0,186149	x
4	8	8,25	0,186149	x
5	8	8,375	0,186149	x
2	8	8,375	0,186149	x
1	8	8,5	0,186149	x

- Textura

**Análisis de Varianza para Textura de 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	2,26786	7	0,32398	1,25	0,2965
B:Ensayo	0,857143	6	0,142857	0,55	0,7651
RESIDUOS	10,8571	42	0,258503		
TOTAL (CORREGIDO)	13,9821	55			

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

**Pruebas de Múltiple Rangos para Textura de miga por Ensayo**

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Ensayo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	8	8,375	0,179758	x
6	8	8,375	0,179758	x
7	8	8,5	0,179758	x
2	8	8,5	0,179758	x
4	8	8,5	0,179758	x
5	8	8,625	0,179758	x
3	8	8,75	0,179758	x

**b) Día 5**

- Apariencia

**Análisis de Varianza para Apariencia - 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	0,785714	7	0,112245	0,46	0,8566
B:Ensayo	7,21429	6	1,20238	4,94	0,0007
RESIDUOS	10,2143	42	0,243197		
TOTAL (CORREGIDO)	18,2143	55			

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

**Pruebas de Múltiple Rangos para Apariencia por Ensayo**

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Ensayo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
7	8	4,875	0,174355	x
5	8	4,875	0,174355	x
4	8	4,875	0,174355	x
6	8	5,0	0,174355	x
1	8	5,25	0,174355	xx
2	8	5,5	0,174355	xx
3	8	5,875	0,174355	x

- Olor

**Análisis de Varianza para Olor - 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	3,125	7	0,446429	1,79	0,1157
B:Ensayo	2,92857	6	0,488095	1,95	0,0945
RESIDUOS	10,5	42	0,25		
TOTAL (CORREGIDO)	16,5536	55			

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

**Pruebas de Múltiple Rangos para Olor por Ensayo**

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Ensayo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
3	8	5,625	0,176777	x
5	8	5,75	0,176777	x
6	8	5,75	0,176777	x
7	8	5,875	0,176777	x
2	8	5,875	0,176777	x
1	8	6,25	0,176777	x
4	8	6,25	0,176777	x

- Sabor

**Análisis de Varianza para Sabor - 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	2,5	7	0,357143	1,50	0,1937
B:Ensayo	0,857143	6	0,142857	0,60	0,7286
RESIDUOS	10,0	42	0,238095		
TOTAL (CORREGIDO)	13,3571	55			

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

**Pruebas de Múltiple Rangos para Sabor por Ensayo**

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Ensayo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
5	8	5,25	0,172516	x
1	8	5,25	0,172516	x
6	8	5,375	0,172516	x
4	8	5,375	0,172516	x
7	8	5,375	0,172516	x
2	8	5,5	0,172516	x
3	8	5,625	0,172516	x

- Textura

**Análisis de Varianza para Textura de 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	2,78571	7	0,397959	2,10	0,0648
B:Ensayo	3,46429	6	0,577381	3,04	0,0145
RESIDUOS	7,96429	42	0,189626		
TOTAL (CORREGIDO)	14,2143	55			

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

**Pruebas de Múltiple Rangos para Textura de miga por Ensayo**

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Ensayo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	8	5,625	0,153959	x
7	8	5,625	0,153959	x
4	8	5,625	0,153959	x
6	8	5,75	0,153959	xx
5	8	5,875	0,153959	xx
2	8	5,875	0,153959	xx
3	8	6,375	0,153959	x

**c) Día 10**

- Apariencia

**Análisis de Varianza para Apariencia - 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	2,28571	7	0,326531	1,67	0,1430
B:Ensayo	13,5	6	2,25	11,50	0,0000
RESIDUOS	8,21429	42	0,195578		
TOTAL (CORREGIDO)	24,0	55			

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

**Pruebas de Múltiple Rangos para Apariencia por Ensayo**

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Ensayo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
7	8	4,0	0,156356	x
1	8	4,25	0,156356	x
6	8	4,25	0,156356	x
5	8	4,375	0,156356	x
2	8	4,375	0,156356	x
4	8	4,625	0,156356	x
3	8	5,625	0,156356	x

- Olor

**Análisis de Varianza para Olor - 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:Ensayo	1,75	6	0,291667	1,87	0,1080
B:Juez	1,71429	7	0,244898	1,57	0,1699
RESIDUOS	6,53571	42	0,155612		
TOTAL (CORREGIDO)	10,0	55			

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

**Pruebas de Múltiple Rangos para Olor por Ensayo**

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Ensayo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	8	4,75	0,139469	x
7	8	4,875	0,139469	x
1	8	4,875	0,139469	x
3	8	5,0	0,139469	x
4	8	5,0	0,139469	x
6	8	5,25	0,139469	x
5	8	5,25	0,139469	x

- Sabor

**Análisis de Varianza para Sabor - 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	2,21429	7	0,316327	1,39	0,2336
B:Ensayo	2,46429	6	0,410714	1,81	0,1206
RESIDUOS	9,53571	42	0,227041		
TOTAL (CORREGIDO)	14,2143	55			

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

**Pruebas de Múltiple Rangos para Sabor por Ensayo**

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Ensayo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	8	4,625	0,168464	x
2	8	4,625	0,168464	x
6	8	4,75	0,168464	x
4	8	4,75	0,168464	x
7	8	4,75	0,168464	x
5	8	5,0	0,168464	x
3	8	5,25	0,168464	x

- Textura

**Análisis de Varianza para Textura de 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	1,55357	7	0,221939	0,57	0,7751
B:Ensayo	23,9643	6	3,99405	10,28	0,0000
RESIDUOS	16,3214	42	0,388605		
TOTAL (CORREGIDO)	41,8393	55			

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

**Pruebas de Múltiple Rangos para Textura de miga por Ensayo**

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Ensayo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
7	8	3,5	0,220399	x
1	8	4,5	0,220399	x
6	8	4,5	0,220399	x
2	8	4,75	0,220399	x
4	8	4,75	0,220399	x
5	8	5,0	0,220399	xx
3	8	5,875	0,220399	x

Anexo 14: Detalle estadístico de diseño experimental para todas las respuestas involucradas.

- Respuesta Daño mecánico en unidades

**Análisis de Varianza para Daño Mecánico**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Cantidad Xilanasa	25,0	1	25,0	0,84	0,4260
B:Cantidad Amilasa Maltogénica	64,0	1	64,0	2,16	0,2379
AB	25,0	1	25,0	0,84	0,4260
Error total	88,8571	3	29,619		
Total (corr.)	202,857	6			

R-cuadrada = 56,1972 por ciento  
 R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 12,3944 por ciento  
 Error estándar del est. = 5,44234  
 Error absoluto medio = 3,26531  
 Estadístico Durbin-Watson = 1,31672 (P=0,1874)  
 Autocorrelación residual de Lag 1 = 0,199127

- Respuesta Firmeza de miga

**Análisis de Varianza para Firmeza Miga**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Cantidad Xilanasa	1668,72	1	1668,72	5,82	0,0949
B:Cantidad Amilasa Maltogénica	3008,52	1	3008,52	10,49	0,0479
AB	0,3025	1	0,3025	0,00	0,9761
Error total	860,807	3	286,936		
Total (corr.)	5538,35	6			

R-cuadrada = 84,4574 por ciento  
 R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 68,9147 por ciento  
 Error estándar del est. = 16,9392  
 Error absoluto medio = 10,2245  
 Estadístico Durbin-Watson = 2,42588 (P=0,7744)  
 Autocorrelación residual de Lag 1 = -0,265487

- Respuesta Elasticidad de miga

**Análisis de Varianza para Elasticidad Miga**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Cantidad Xilanasa	0,000016	1	0,000016	0,68	0,4712
B:Cantidad Amilasa Maltogénica	0,001369	1	0,001369	57,85	0,0047
AB	0,000016	1	0,000016	0,68	0,4712
Error total	0,000071	3	0,0000236667		
Total (corr.)	0,001472	6			

R-cuadrada = 95,1766 por ciento  
 R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 90,3533 por ciento  
 Error estándar del est. = 0,00486484  
 Error absoluto medio = 0,00285714  
 Estadístico Durbin-Watson = 1,37676 (P=0,2138)  
 Autocorrelación residual de Lag 1 = 0,0140845

- Respuesta Cohesividad de miga

#### Análisis de Varianza para Cohesividad

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Cantidad Xilanasa	0,001024	1	0,001024	4,62	0,1209
B:Cantidad Amilasa Maltogénica	0,003025	1	0,003025	13,64	0,0344
AB	0,000441	1	0,000441	1,99	0,2533
Error total	0,000665429	3	0,00022181		
Total (corr.)	0,00515543	6			

R-cuadrada = 87,0927 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 74,1853 por ciento

Error estándar del est. = 0,0148933

Error absoluto medio = 0,00608163

Estadístico Durbin-Watson = 1,8304 (P=0,4540)

Autocorrelación residual de Lag 1 = 0,0677176

- Respuesta Apariencia Sensorial

#### Análisis de Varianza para Apariencia Sensorial

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Cantidad Xilanasa	0,5625	1	0,5625	15,25	0,0298
B:Cantidad Amilasa Maltogénica	0,7744	1	0,7744	21,00	0,0195
AB	0,25	1	0,25	6,78	0,0801
Error total	0,110643	3	0,036881		
Total (corr.)	1,69754	6			

R-cuadrada = 93,4822 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 86,9644 por ciento

Error estándar del est. = 0,192044

Error absoluto medio = 0,107347

Estadístico Durbin-Watson = 0,538444 (P=0,0084)

Autocorrelación residual de Lag 1 = 0,424394

- Respuesta Olor sensorial

#### Análisis de Varianza para Olor Sensorial

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Cantidad Xilanasa	0,00390625	1	0,00390625	0,10	0,7688
B:Cantidad Amilasa Maltogénica	0,00390625	1	0,00390625	0,10	0,7688
AB	0,0976563	1	0,0976563	2,59	0,2062
Error total	0,113281	3	0,0377604		
Total (corr.)	0,21875	6			

R-cuadrada = 48,2143 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 0,0 por ciento

Error estándar del est. = 0,19432

Error absoluto medio = 0,107143

Estadístico Durbin-Watson = 1,33621 (P=0,1958)

Autocorrelación residual de Lag 1 = 0,224138

- Respuesta Sabor Sensorial

**Análisis de Varianza para Sabor Sensorial**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Cantidad Xilanasa	0,015625	1	0,015625	0,34	0,5986
B:Cantidad Amilasa Maltogénica	0,140625	1	0,140625	3,10	0,1766
AB	0,015625	1	0,015625	0,34	0,5986
Error total	0,136161	3	0,0453869		
Total (corr.)	0,308036	6			

R-cuadrada = 55,7971 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 11,5942 por ciento

Error estándar del est. = 0,213042

Error absoluto medio = 0,132653

Estadístico Durbin-Watson = 1,23361 (P=0,1536)

Autocorrelación residual de Lag 1 = 0,192037

- Respuesta Textura sensorial

**Análisis de Varianza para Textura Miga Sensorial**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Cantidad Xilanasa	0,8836	1	0,8836	56,95	0,0048
B:Cantidad Amilasa Maltogénica	2,0736	1	2,0736	133,66	0,0014
AB	0,0036	1	0,0036	0,23	0,6630
Error total	0,0465429	3	0,0155143		
Total (corr.)	3,00734	6			

R-cuadrada = 98,4524 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 96,9047 por ciento

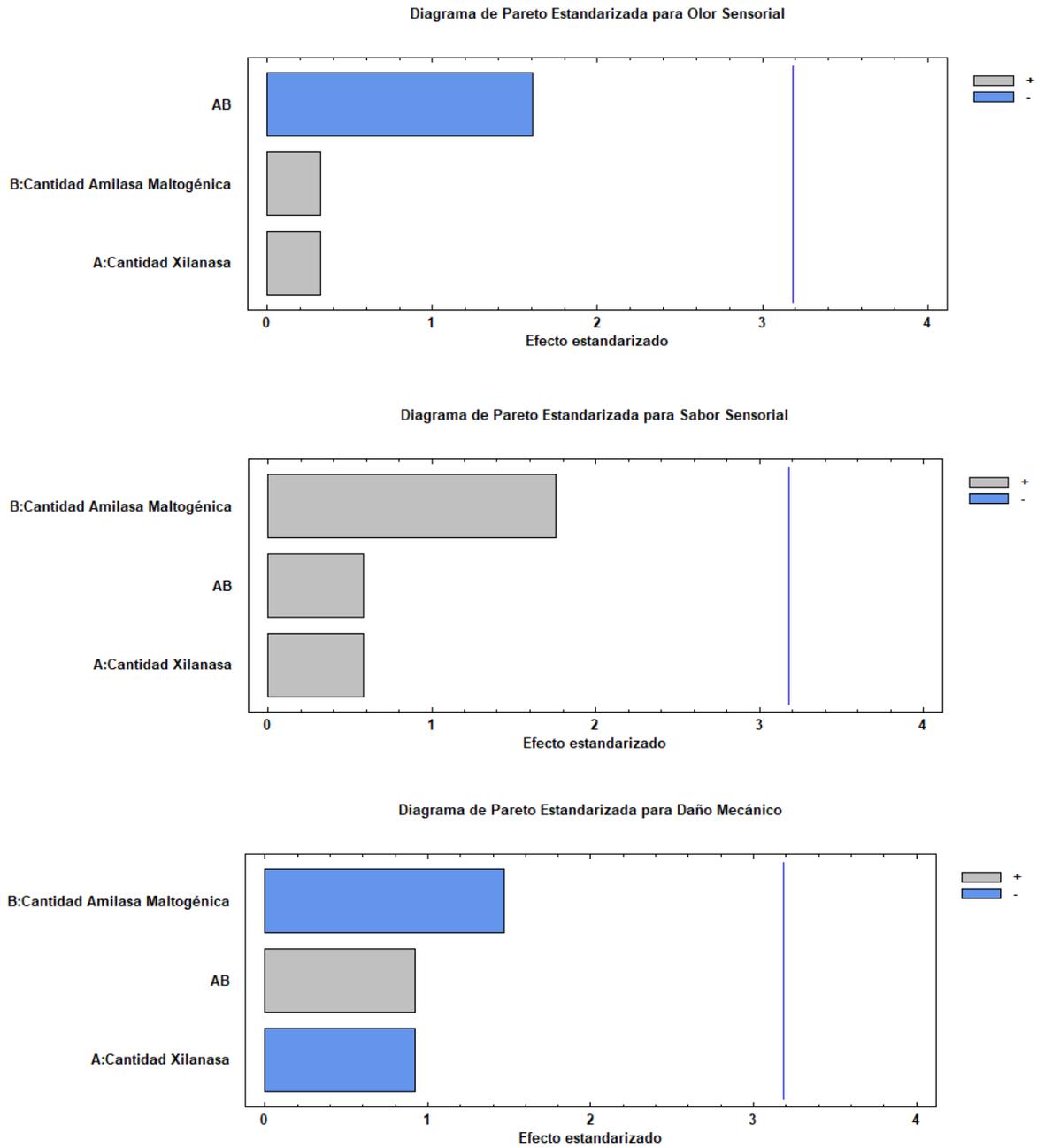
Error estándar del est. = 0,124556

Error absoluto medio = 0,0563265

Estadístico Durbin-Watson = 1,40086 (P=0,2249)

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0,123564

## Anexo 15: Diagramas de Pareto para respuestas de diseño experimental



Anexo 16: Hoja de evaluación sensorial

**HOJA DE EVALUACIÓN SENSORIAL**

**Nombre Evaluador:**

**Fecha:**

**Muestra: .....**

<b>CARACTERÍSTICA</b>	<b>NOTA</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
Apariencia General y Forma		
Olor		
Sabor		
Textura Miga		

Anexo 17: Tabla de Calidad Karlsruhe

**TABLA GENERAL DEL TEST DE VALORACIÓN DE CALIDAD PARA PAN MARRAQUETA**

Características	Calidad Grado 1: Características Típicas			Calidad Grado 2: Deterioro Tolerable			Calidad Grado 3: Deterioro Indeseable		
	Excelente 9	Muy Buena 8	Buena 7	Satisfactoria 6	Regular 5	Suficiente 4	Defectuosa 3	Mala 2	Muy Mala 1
<b>Apariencia General</b>	Completamente bien conservada, no dañada. Simétrica. Greña definida. Volumen óptimo	Muy bien conservada. Simétrica aún. Presencia de greña característica. Volumen característico.	Bien conservada. Greña aún típica. Aún simétricas y con volumen característico. Buen volumen.	Algunas unidades con greñas abiertas y otras cerradas. Algunas con volumen menor a lo característico y algunas asimétricas.	Varias unidades aplastadas, con pérdida de volumen. Algunas asimétricas. Greñas cerradas y abiertas.	Unidades con volumen alterado y poco simétricas. Defectos en greña. Unidades con descaramiento	Todas las unidades aplastadas y con descaramiento notorio.	Irregulares, aplastadas, con corteza descascarada. Presencia de materias extrañas.	Hundidas totalmente, completamente descascaradas. Con materias extrañas.
<b>Olor</b>	Equilibrado, típico a homeo intenso, a tostado. Característico.	Equilibrado, típico aún a producto homeado.	Aún característico, homeado.	Aún típico a producto homeado.	Aun aceptable, con leve pérdida de aroma a producto homeado. Algo quemado, algo insípido.	Olor a quemado, sin aroma. Poco aroma, insípido	Añejo, poco aroma, ácido	Acido, añejo, sin aroma de un producto homeado.	Acido, presencia de otros aromas no deseados.
<b>Sabor</b>	Intenso a producto homeado, tostado. Muy característico, nivel de sal óptimo.	Característico a producto homeado. Buen nivel de sal.	Nivel de sal aún aceptable. Percepción de producto homeado aún típica.	Algo salado. Algo falta de sal. Con leve pérdida de sabor característico.	Salado. Falta de sal. No muy característico de masa homeada	Desbalance en nivel de sal pero aún tiene el sabor de un producto homeado, aunque no muy característico.	Acido. Insípido. Nada característico.	Sabores extraños. Algo ácido, algo insípido.	Presencia de sabores de rancidez, acidez, sabores extraños
<b>Textura miga</b>	Miga esponjosa, muy suave. Muy característica de pan fresco	Típica de este tipo de pan, suave, esponjosa	Aún suave, característico. Sensación agradable en primera mordida	Aún típico a este tipo de pan, primera mordida algo más difícil, levemente áspera.	Aún aceptable, humedad baja mordida áspera y difícil con los dientes	Poco esponjosa, miga compacta. Chiclosa. Seca	Mordida dura, muy seca, nada de humedad.	Casi imposible de morder, muy seca y áspera	Imposible de morder.