



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

**EVALUACIÓN Y DISMINUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE ACRILAMIDA EN EL
PAN FRANCÉS Y PAN DULCE TOSTADO POR MEDIO DE ADICIÓN DE ASPARAGINASA
EN LA MEZCLA FORMULADA**

Mario Francisco Rousselin Morales

Asesorado por el Ing. Mario Francisco Rousselin Sandoval y
Coasesorado por la Inga. Liuba María Cabrera Ovalle de Villagrán

Guatemala, noviembre de 2017

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**EVALUACIÓN Y DISMINUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE ACRILAMIDA EN EL
PAN FRANCÉS Y PAN DULCE TOSTADO POR MEDIO DE ADICIÓN DE ASPARAGINASA
EN LA MEZCLA FORMULADA**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA

POR

MARIO FRANCISCO ROUSSELIN MORALES

ASESORADO POR EL ING. MARIO FRANCISCO ROUSSELIN SANDOVAL Y
COASESORADO POR LA INGA. LIUBA MARÍA CABRERA OVALLE DE
VILLAGRÁN

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2017

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL I	Ing. Angel Roberto Sic García
VOCAL II	Ing. Pablo Christian de León Rodríguez
VOCAL III	Ing. José Milton de León Bran
VOCAL IV	Br. Jurgen Andoni Ramírez Ramírez
VOCAL V	Br. Oscar Humberto Galicia Nuñez
SECRETARIA	Inga. Lesbia Magalí Herrera López

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
EXAMINADOR	Ing. César Ariel Villela Rodas
EXAMINADORA	Inga. Adela María Marroquín González
EXAMINADOR	Ing. Adolfo Narciso Gramajo Antonio
SECRETARIA	Inga. Lesbia Magalí Herrera López

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

EVALUACIÓN Y DISMINUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE ACRILAMIDA EN EL PAN FRANCÉS Y PAN DULCE TOSTADO POR MEDIO DE ADICIÓN DE ASPARAGINASA EN LA MEZCLA FORMULADA

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha enero de 2017.

Mario Francisco Rousselin Morales

Guatemala, 16 de octubre de 2017

Ingeniero
Carlos Salvador Wong Davi
Director de Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente,

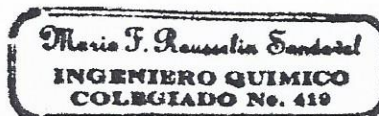
De la manera más atenta me dirijo a usted para manifestarle que he asesorado y revisado el trabajo de graduación del estudiante MARIO FRANCISCO ROUSSELIN MORALES, de la carrera de ingeniería química, identificado con carne 201314167 y CUI 2509176370101 el cual se titula "***Evaluación y disminución de las concentraciones de acrilamida en el pan francés y pan dulce tostado por medio de adición de asparaginasa en la mezcla formulada.***". Dicho trabajo cumple con los requerimientos correspondientes, por tanto después de dicha revisión doy por aprobado el mismo para que pueda proseguir con todos los trámites y estatutos de ley, y que pueda realizar la defensa del mismo.

Sin otro particular y agradeciendo de antemano su atención a la presente, me suscribo de usted.

Atentamente



Ing. Mario Francisco Rousselin Sandoval



Ingeniero Químico

Colegiado 419


Guatemala, 16 de octubre de 2017

Ingeniero
Carlos Salvador Wong Davi
Director de Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente,

De la manera más atenta me dirijo a usted para manifestarle que he asesorado y revisado el trabajo de graduación del estudiante MARIO FRANCISCO ROUSSELIN MORALES, de la carrera de ingeniería química, identificado con carne 201314167 y CUI 2509176370101 el cual se titula "***Evaluación y disminución de las concentraciones de acrilamida en el pan francés y pan dulce tostado por medio de adición de asparaginasa en la mezcla formulada.***". Dicho trabajo cumple con los requerimientos correspondientes, por tanto después de dicha revisión doy por aprobado el mismo para que pueda proseguir con todos los trámites y estatutos de ley, y que pueda realizar la defensa del mismo.

Sin otro particular y agradeciendo de antemano su atención a la presente, me suscribo de usted.

Atentamente



Inga. Liuba María Cabrera de Villagrán
Ingeniera en alimentos

Colegiado 713
Liuba María Cabrera de Villagrán
Ingeniera en Alimentos
Colegiado N° 713

Guatemala, 27 de octubre de 2017.
Ref. EIQ.TG-IF.046.2017.

Ingeniero
Carlos Salvador Wong Davi
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Wong:

Como consta en el registro de evaluación del informe final EIQ-PRO-REG-007 correlativo **068-2016** le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

Solicitado por el estudiante universitario: **Mario Francisco Rousselin Morales**.
Identificado con número de carné: **2013-14167**.
Previo a optar al título de **INGENIERO QUÍMICO**.


Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

EVALUACIÓN Y DISMINUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE ACRILAMIDA EN EL PAN FRANCÉS Y PAN DULCE TOSTADO POR MEDIO DE ADICIÓN DE ASPARAGINASA EN LA MEZCLA FORMULADA

El Trabajo de Graduación es asesorado por el Ingeniero Químico **Mario Francisco Rousselin Sandoval** y co-asesorado por la Ingeniera en Alimentos **Liuba María Cabrera Ovalle de Villagrán**.

Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"


Inga. Hilda Piedad Palma de Martini
COORDINADORA DE TERNA
Tribunal de Revisión
Trabajo de Graduación

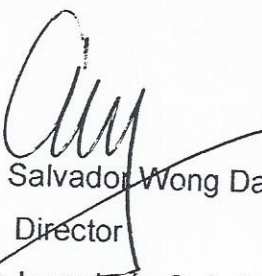


C.c.: archivo

Ref. EIQ.TG.28.11.2017

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el informe del Trabajo de Graduación del estudiante, MARIO FRANCISCO ROUSSELIN MORALES titulado : "EVALUACIÓN Y DISMINUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE ACRILAMIDA EN EL PAN FRANCÉS Y PAN DULCE TOSTADO POR MEDIO DE LA ADICIÓN DE ASPARAGINASA EN LA MEZCLA FORMULADA". Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

"Id y Enseñad a Todos"



Ing. Carlos Salvador Wong Davi
Director
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, noviembre 2017



El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de graduación titulado: **EVALUACIÓN Y DISMINUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE ACRILAMIDA EN EL PAN FRANCÉS Y PAN DULCE TOSTADO POR MEDIO DE ADICIÓN DE ASPARAGINASA EN LA MEZCLA FORMULADA**, presentado por el estudiante universitario: **Mario Francisco Rousselin Morales**, y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, se autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE.


Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco

Decano



Guatemala, noviembre de 2017

/cc

ACTO QUE DEDICO A:

Dios	Por ser mí guía y sustento diario, brindando su fortaleza y esperanza siempre.
Mi padre y asesor	Mario Francisco Rousselin Sandoval, por ser mi ejemplo a seguir, mi inspiración y guía, por su amor incondicional.
Mi madre	Imelda Magali Morales Gómez, por su amor, esfuerzo y dedicación diaria para guiarme y apoyarme.
Mi hermano	Diego Alejandro Rousselin Morales, por su apoyo.
La memoria de mi abuela	Sara Leticia Sandoval de Rousselin (q.e.p.d), por los valores, consejos y enseñanzas que forjaron quien soy hoy.
Mi abuela	Reina Isabel Gómez, por su incondicional apoyo.
Mi asesora	Liuba María Cabrera de Villagrán, por su apoyo invaluable en el desarrollo de mi carrera.

Los que me apoyaron

A mi novia, mis amigos del Departamento de Matemática y los amigos que hice durante la carrera.

AGRADECIMIENTOS A:

Universidad de San Carlos de Guatemala	Por brindarme la oportunidad de desarrollarme profesionalmente.
Facultad de Ingeniería	Por brindarme conocimiento y enseñanzas durante varios años.
Mis asesores	Mario Francisco Rousselin Sandoval y Liuba María Cabrera de Villagrán, por el apoyo brindado en el desarrollo de este proyecto.
DIGI	Por su apoyo en el desarrollo de este estudio.
Laboratorios de Toxicología y su equipo	Por el invaluable aporte a la investigación realizada en este trabajo.
Mi revisora	Inga. Hilda Piedad Palma de Martini.
Mis tíos y tías	Edgar (q.e.p.d), Rolando, Sara, Alfredo, Hilda Rousselin y Wenceslao Hernández (q.e.p.d).
Mis primos	Por su apoyo y compañía.
Mis catedráticos	Por el conocimiento transmitido.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	V
LISTA DE SÍMBOLOS	IX
GLOSARIO	XI
RESUMEN	XV
OBJETIVOS	XVII
HIPÓTESIS	XVIII
INTRODUCCIÓN	XXI
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Acrilamida	3
2.2. Formación de la acrilamida: reacción de Maillard	4
2.3. Exposición a la acrilamida y riesgo de cáncer	5
2.4. Asparagina	6
2.4.1. Asparaginasa	7
2.5. Tipo de trigo (clasificación E.U.A.)	8
2.5.1. Trigo Hard Red Winter (HRW)	8
2.5.2. Trigo Soft Red Winter y Soft White Winter (SRW/SWW)	8
2.5.3. Trigo Dark Northern Spring (DNS)	8
2.6. Elaboración del pan	9
2.6.1. Ingredientes para la elaboración de pan	9

	2.6.1.1.	Harina	9
	2.6.1.2.	Sal	11
	2.6.1.3.	Levadura.....	11
	2.6.1.4.	Azúcar	13
	2.6.1.5.	Materias grasas.....	13
	2.6.1.6.	Leche.....	13
	2.6.1.7.	Huevos	14
2.6.2.		Proceso de panificación	14
	2.6.2.1.	Pesaje de ingredientes.....	14
	2.6.2.2.	Amasado	14
	2.6.2.3.	Primera fermentación	15
	2.6.2.4.	Corte.....	15
	2.6.2.5.	Ovillado.....	15
	2.6.2.6.	Segunda fermentación	15
	2.6.2.7.	Moldeado.....	16
	2.6.2.8.	Horneado.....	16
2.7.		Propiedades reológicas de la masa	16
	2.7.1.	Extensibilidad.....	17
	2.7.2.	Absorción.....	17
	2.7.3.	Farinograma	18
2.8.		Propiedades organolépticas del pan	19
	2.8.1.	Color y forma	19
	2.8.2.	Olor	19
	2.8.3.	Textura.....	20
	2.8.4.	Sabor	20
	2.8.5.	Panel sensorial	21
3.		DISEÑO METODOLÓGICO	23

3.1.	Variables	23
3.2.	Delimitación del estudio	23
3.3.	Recursos humanos disponibles.....	24
3.4.	Recursos materiales	24
3.4.1.	Infraestructura.....	26
3.5.	Técnica cuantitativa	27
3.5.1.	Preparación de pan francés	27
3.5.2.	Preparación de pan dulce.....	28
3.5.3.	Preparación de solución estándar de acrilamida	28
3.5.4.	Preparación de solución para pruebas cromatográficas (20ppm).....	29
3.5.5.	Solución estándar	29
3.5.6.	Preparación de muestras.....	29
3.5.7.	Tratamiento con Carrez I y II (precipitación acrilamida)	29
3.5.8.	Utilización del HPLC	30
3.5.9.	Utilización de alveógrafo.....	30
3.5.10.	Utilización del farinógrafo	34
3.5.11.	Pruebas sensoriales	36
3.6.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información.....	36
3.6.1.	Tabulación y ordenamiento	36
3.6.2.	Procesamiento de la información	39
3.7.	Análisis estadístico	39
3.7.1.	Ordenamiento de datos	39
3.7.2.	Procesamiento de los datos	39
3.7.3.	Resultado e interpretación de ANOVA.....	41
3.7.4.	Análisis de los resultados del ANOVA.....	43

4.	RESULTADOS.....	45
4.1.	Calibración del HPLC a partir de estándares	45
4.2.	Evaluación de la concentración de acrilamida en el pan francés y pan dulce tostado.....	46
4.3.	Propiedades reológicas de la masa	47
4.4.	Panel sensorial	51
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	53
5.1.	Estándar de acrilamida y metacrilamida.....	55
5.2.	Medición de acrilamida en el pan patrón.....	55
5.3.	Lectura e interpretación numérica del cromatograma.....	56
5.4.	Disminución de la concentración de acrilamida por medio de asparaginasa	56
5.5.	Propiedades reológicas de la mezcla formulada.....	58
5.6.	Propiedades proteicas del pan con asparaginasa	60
5.7.	Panel sensorial	60
	CONCLUSIONES.....	63
	RECOMENDACIONES	65
	BIBLIOGRAFÍA.....	67
	ANEXOS.....	79

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Molécula de acrilamida	3
2.	Propiedades fisicoquímicas de la acrilamida.....	4
3.	Reacción de Maillard para asparagina	4
4.	Mecanismo de la reacción de Maillard para asparagina	5
5.	Molécula de asparagina.....	6
6.	Ficha descriptiva de la harina	11
7.	Ficha descriptiva de la levadura	12
8.	Farinograma.....	18
9.	Análisis de datos.....	40
10.	Selección de función de análisis	40
11.	Selección de parámetros para ANOVA en Microsoft Excel	41
12.	Tabla de análisis de varianza en Microsoft Excel 2013®.....	42
13.	Relación de alturas entre acrilamida y estándar interno de metacrilamida para las soluciones estándar	45
14.	Concentración de acrilamida en el pan francés con respecto a la cantidad de asparaginasa agregada	46
15.	Concentración de acrilamida en el pan dulce tostado con respecto a la cantidad de asparaginasa agregada	46

16.	Medición de <i>falling number</i> para las muestras con asparaginasa para harina tipo dura.....	47
17.	Medición de <i>falling number</i> para las muestras con asparaginasa para harina tipo suave	47
18.	Medición de gluten para las muestras con asparaginasa de harina tipo dura	48
19.	Medición de gluten para las muestras con asparaginasa de harina tipo suave.....	48
20.	Medición de absorción para las muestras con asparaginasa de harina tipo dura.....	49
21.	Medición de absorción para las muestras con asparaginasa de harina tipo suave	49
22.	Medición de proteína para las muestras con asparaginasa de harina tipo dura.....	50
23.	Medición de proteína para las muestras con asparaginasa de harina tipo suave	50
24.	Histograma representativo de resultados del panel sensorial para pan francés	51
25.	Histograma representativo de resultados del panel sensorial para pan dulce tostado	52

TABLAS

I.	Ingredientes para pan francés	27
II.	Receta de pan dulce	28
III.	Recolección de datos de alturas asociadas a concentración de acrilamida y metacrilamida de estándares	37
IV.	Recolección de datos de alturas asociadas da concentración de acrilamida y metacrilamida de muestras de pan	37
V.	Recolección de datos de propiedades reológicas de la masa	38
VI.	Tabla de evaluación sensorial	38
VII.	Clasificación para análisis de varianza (ANOVA)	39
VIII.	Tabla de resumen estadístico en ANOVA en Microsoft Excel 2013® ..	42
IX.	Resultados promedio del panel sensorial para pan francés	51
X.	Resultados promedio del panel sensorial para pan dulce tostado.....	52
XI.	Datos de altura del pico característico de la acrilamida calculado por el cromatógrafo en el software EZ Chrom® para los estándares de acrilamida y metacrilamida	72
XII.	Relaciones de altura de acrilamida y metacrilamida para estándares	72
XIII.	Datos de altura del pico característico de la acrilamida calculado por el cromatógrafo en el software EZ Chrom® para las muestras de pan francés	73
XIV.	Relación de altura entre concentración de acrilamida y concentración de estándar interno para las muestras de pan francés.....	73

XV.	Datos de altura del pico característico de la acrilamida calculado por el cromatógrafo en el software EZ Chrom® para las muestras de pan dulce tostado	74
XVI.	Relación de altura entre concentración de acrilamida y concentración de estándar interno para las muestras de pan dulce tostado.	74
XVII.	Promedio de relación de alturas con estándar interno para pan francés.	75
XVIII.	Promedio de relación de alturas con estándar interno para pan dulce tostado	75
XIX.	Mediciones de <i>falling number</i> para harina tipo suave y tipo dura.....	75
XX.	Mediciones de gluten para harina tipo suave y tipo dura.....	76
XXI.	Mediciones de porcentaje de proteína para harina tipo suave y tipo dura....	76
XXII.	Mediciones de porcentaje de absorción para harina tipo suave y tipo dura	76
XXIII.	Requisitos académicos.....	77

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
σ	Desviación estándar
SI	Estándar interno
W	Fuerza
°C	Grado centígrado
g	Gramo
kg	Kilogramo
μg	Microgramo
ppm	Partes por millón
%	Porcentaje
s	Segundo

GLOSARIO

Absorción	Proceso mediante el cual una sustancia retiene moléculas de otra que se encuentra en estado líquido o gaseoso.
Acrilamida	Compuesto formado durante el calentamiento a temperaturas superiores a 100C, es decir durante la fritura y el horneado, de vegetales ricos en su composición en azúcares y pobres en proteínas.
Alveógrafo	Aparato que simula el comportamiento de la masa en la fermentación, imitando la formación de alvéolos originados por el dióxido de carbono que producen las levaduras.
Aminoácido	Molécula orgánica con un grupo amino (-NH ₂) y un grupo carboxilo (-COOH).
Asparagina	Aminoácido no esencial, procedente del metabolismo de otros aminoácidos, que tiene efectos acidificantes. En los alimentos interviene en la reacción de Maillard y produce sustancias como la acrilamida.
Asparaginasa	Enzima proteica que degrada la asparagina mediante hidrólisis.

Cromatografía	Técnica empleada para separar los distintos componentes de una mezcla para su posterior estudio; consiste en pasar una fase móvil a través de una fase estacionaria sólida, la fase estacionaria retrasa el paso de los componentes de la muestra, de forma que los componentes la atraviesan a diferentes velocidades y se separan en el tiempo.
Farinógrafo	Aparato utilizado para determinar la calidad de la harina, midiendo las cualidades de mezclado de su masa por medio de la consistencia de una masa obtenida por la mezcla de agua y harina, por medio de la fuerza necesaria para amasarla a una velocidad constante.
Farinograma	Gráfico generado por un farinógrafo que permite medir absorción, tiempo de llegada, desarrollo y salida.
Fermentación	Proceso bioquímico mediante el cual una sustancia se transforma en otra.
Gluten	Proteína amorfa que se encuentra en la semilla del trigo combinada con almidón. Es la responsable de la elasticidad de la masa de harina.
Genotóxico	Sustancia dañina para el ADN.

Hidrofílico	Sustancia con grupos polares fuertes que interaccionan con el agua.
Hidrólisis	Descomposición de sustancias orgánicas por acción del agua.
HPLC	(Cromatógrafo de líquidos de alta resolución). Equipo que permite separar las diversas sustancias que se encuentren presentes en una muestra, lo cual permite identificarlas y cuantificarlas con un solo análisis.
Inocuo	Sustancia inofensiva o que no causa ningún daño.
Monómero	Molécula simple, generalmente de peso molecular bajo, que forma cadenas lineales o ramificadas de dos, tres o más unidades.
Poliacrilamida	Polímero de acrilamida.
Proteína	Macromoléculas formadas por una cadena lineal de aminoácidos esenciales, constituida a base de carbono, hidrógeno, nitrógeno y oxígeno, además de otros elementos como azufre, hierro, fósforo y zinc.
Propiedades reológicas	Propiedades que determinan el comportamiento de sustancias sometidas a carga mecánica.

RESUMEN

En el presente trabajo de graduación se evaluó la concentración de la acrilamida presente en el pan francés y pan dulce tostado (champurrada), producido de manera tradicional en Guatemala. También se disminuyó la concentración de la misma, por medio de la adición de la enzima asparaginasa a la mezcla formulada para panificación, y se verificó que dicha enzima no afectara las propiedades reológicas de la masa, así como las propiedades sensoriales del pan.

Se prepararon 5 mezclas de harina con diferentes concentraciones de asparaginasa (0, 50, 75, 100 y 150 ppm) con harina suave, para producción de pan dulce tostado, y con harina dura, para producción de pan francés. Posteriormente se realizaron las distintas pruebas de calidad a la harina (absorción, contenido de gluten, índice de caída e índice de proteína), procediendo a panificar en un horno de convección a 220 °C y 190 °C para el pan francés y pan dulce tostado, respectivamente, y así medir las concentraciones de acrilamida y las propiedades sensoriales del pan.

Por medio de la adición de asparaginasa se logró reducir en un 18,12 % la cantidad de acrilamida producida en el pan francés, y en un 26,18 % en la producida en champurrada, siendo esta reducción correspondiente a la adición de 150 ppm de asparaginasa en la harina. Por último se comprobó que una dosis de asparaginasa de hasta 150 ppm no afecta en un grado significativo las propiedades reológicas de la masa, ni las propiedades sensoriales del pan.

OBJETIVOS

General

Evaluar la dosis óptima de asparaginasa para mantener las concentraciones de acrilamida en el pan francés y pan dulce tostado, sin tener ningún efecto significativo en las propiedades reológicas de la masa, ni en las propiedades organolépticas del pan.

Específicos

1. Determinar la concentración promedio de acrilamida en el pan francés y pan dulce tostado.
2. Establecer la variación de las concentraciones de acrilamida con respecto a la cantidad de asparaginasa agregada a la harina de trigo para producción de pan francés y pan dulce tostado.
3. Monitorear los cambios de propiedades reológicas de la masa para pan francés y pan dulce tostado, al ser producidos con harina de trigo con aditivo de asparaginasa.
4. Monitorear los cambios de propiedades sensoriales en el pan francés y pan dulce tostado, al ser producidos con mezcla formulada con aditivo de asparaginasa.

HIPÓTESIS

Hipótesis nula:

Los valores de la concentración de acrilamida en el pan francés producido a partir de harina de trigo dura no superan los niveles de $80\mu\text{k}/\text{kg}$.

Hipótesis alternativa:

Los valores de la concentración de acrilamida en el pan francés producido a partir de harina de trigo dura superan los niveles de $80\mu\text{g}/\text{kg}$.

Hipótesis nula:

Las concentraciones de acrilamida en el pan francés no varían con respecto a la cantidad de asparaginasa agregada a la mezcla formulada.

Hipótesis alternativa:

Las concentraciones de acrilamida en el pan francés varían con respecto a la cantidad de asparaginasa agregada a la mezcla formulada.

Hipótesis nula:

Las concentraciones de acrilamida en el pan francés no varían con respecto a la temperatura de horneado.

Hipótesis alternativa:

Las concentraciones de acrilamida en el pan francés varían con respecto a la temperatura de horneado.

Hipótesis nula:

Las propiedades sensoriales del pan francés no varían con respecto a la cantidad de asparaginasa agregada a la mezcla formulada.

Hipótesis alternativa:

Las propiedades sensoriales del pan francés varían con respecto a la cantidad de asparaginasa agregada a la mezcla formulada.

Hipótesis nula:

Las concentraciones de acrilamida en el pan francés no varían con respecto a la cantidad de asparaginasa agregada a la mezcla formulada.

Hipótesis alternativa:

Las concentraciones de acrilamida en el pan dulce tostado varían con respecto a la cantidad de asparaginasa agregada a la mezcla formulada.

Hipótesis nula:

Las concentraciones de acrilamida en el pan dulce tostado no varían con respecto a la temperatura de horneado.

Hipótesis alternativa:

Las concentraciones de acrilamida en el pan dulce tostado varían con respecto a la temperatura de horneado.

Hipótesis nula:

Las propiedades sensoriales del pan dulce tostado no varían con respecto a la cantidad de asparaginasa agregada a la mezcla formulada.

Hipótesis alternativa:

Las propiedades sensoriales del pan dulce tostado varían con respecto a la cantidad de asparaginasa agregada a la mezcla formulada.

INTRODUCCIÓN

En abril de 2002 algunos investigadores de la Dirección Nacional de Alimentación de Suecia (SNFA) y de la Universidad de Estocolmo publicaron acerca de la existencia de la acrilamida en los alimentos asados, fritos y horneados, a temperaturas que sobrepasan los 120°C. Tras esto, diferentes países de Europa y Norteamérica se han dado a la tarea de realizar investigaciones acerca de la acrilamida, principalmente en alimentos que contienen almidón.

La acrilamida (2- propenamida) es un compuesto hidrofílico de bajo peso molecular, conocido principalmente por su uso como monómero en la producción de poliacrilamida. Se emplea en plásticos y como medio de electroforesis. Las conclusiones a la fecha muestran que la acrilamida se forma durante la preparación culinaria e industrial de alimentos, ricos en carbohidratos y que se fríen, hornean o extruden a temperaturas que exceden los 120° C, como producto de la reacción de la asparagina y glucosa que corresponde a la conocida reacción de Maillard. Este compuesto se clasificó como “probablemente cancerígeno para humanos” (tipo 2A), según la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Actualmente la Unión Europea (UE) y el comité científico de alimentos (CCA) obligan a todos los productores de alimentos a tener normas estrictas en el contenido de acrilamida, así como recomendaciones que cada campo de producción debe seguir para poder amortiguar el impacto de este compuesto en la población. Según el reporte *Implicaciones en la salud de la acrilamida en la*

alimentación, la media de concentración de acrilamida en el pan debe estar en 112 µg/kg, para que no tenga efecto sobre la salud del consumidor.¹

Para poder reducir la creación de acrilamida se propone reducir la concentración de uno de los dos reactivos que la originan, esto con el fin de que la reacción de Maillard tenga lugar en un mínimo nivel. Se idea introducir una enzima llamada asparaginasa, la cual actúa sobre la digestión de la asparagina generando ácido aspártico, para de esta manera reducir la reacción que da lugar a la acrilamida. El pan, producto de consumo diario, es horneado entre los 190 y 240°C, estando en condiciones de formar acrilamida, la cual será consumida por el cliente. En Guatemala, el pan francés y el pan dulce tostado son los tipos de pan más consumidos, pero no se tiene ningún tipo de control acerca del contenido, ni de ningún método de reducción de la acrilamida.

Esta investigación busca determinar los niveles de acrilamida que se ingieren en nuestro país, por medio de los tipos de pan antes mencionados, los cuales son productos básicos en cada familia guatemalteca. De igual manera, busca encontrar un nivel adecuado en el tratamiento enzimático que existe para poder reducir dicho contenido.

¹ World Health Organization. *Health implications of acrylamide in food*. p. 9

1. ANTECEDENTES

En el campo de la investigación, con el fin de buscar un método de determinación de la acrilamida y de reducción de la misma en diversos alimentos, se han realizado varias investigaciones a nivel internacional dado que, en la actualidad, la mayoría de alimentos que se consumen diariamente se exponen a temperaturas a las que se da la síntesis de la amida.

En el 2007, Luis Hernández Moreno realizó su trabajo de graduación: *Implementación de una metodología analítica para la cuantificación de acrilamida en papas chips por HPCL MS/MS*, en el que analizó la precisión y exactitud de las mediciones de acrilamida utilizando una cromatografía líquida de alto rendimiento. Así logró determinar el método cuantitativo para las concentraciones de acrilamida, utilizando como base las papas *chips*.

El CCFAC, en su 35ª reunión de sesiones, también incluyó la acrilamida en su lista de sustancias prioritarias para la evaluación de riesgos por parte del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA). Las Secretarías conjuntas tenían previsto evaluar la acrilamida en la 65ª reunión del JECFA, en febrero de 2005. En 2002, el Reino Unido elaboró un informe por encargo de la Unión Europea sobre la evaluación de riesgos de la acrilamida en el marco de la UE, con el fin de controlar los riesgos derivados de las sustancias existentes. La evaluación de la exposición laboral se basó en las informaciones aportadas por la industria. En los estudios, se consideraron diferentes sectores: fabricación de preparados a base de acrilamida/poliacrilamida, aplicaciones de los geles de electroforesis y empleo de las lechadas a base de acrilamida, en los que los trabajadores podían sufrir

una exposición laboral. Se llegó a la conclusión de que los trabajadores deberían tener en cuenta las medidas actualmente vigentes para la reducción de riesgos, debido al carácter cancerígeno y genotóxico de la acrilamida y al pequeño margen de inocuidad existente para ciertas hipótesis de exposición, con respecto a los efectos tóxicos sobre el sistema nervioso y el aparato reproductor.

En el 2015, Carolina Plaza, de la Universidad de Chile, realizó el trabajo *Reducción del contenido de Acrilamida en pan tipo hallulla mediante la incorporación de asparaginasa*. Así determinó un contenido de acrilamida en el pan tipo hallulla, con control de 108 µg/kg. La adición de la enzima asparaginasa tuvo un efecto reductor en la acrilamida del pan final, siendo el rango de concentración óptima para la disminución de acrilamida 100 a 150 ppm de enzima/ kg de harina, obteniendo una reducción del 80 % y más del 99 %, respectivamente.

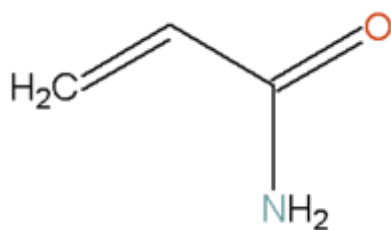
En enero del 2012, Andrés Vargas, de la Universidad de Nuevo León, en México, realizó su trabajo de maestría sobre el tema *Desarrollo de un método analítico para acrilamida en tortillas tostadas empleando microextracción en gota y líquidos iónicos (IL-SDME)*, en el que logró estandarizar el método de extracción de acrilamida y lectura de la misma por un HPLC adaptado a un lector UV que mide la absorbencia del producto.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Acrilamida

La acrilamida es un compuesto orgánico de tipo amida, su número CAS es 79-06-01. Es blanca, inodora y cristalina, soluble en agua, etanol, éter y cloroformo. Se forma en alimentos durante su cocción o procesado a altas temperaturas (especialmente en los productos que contienen almidón), también es un componente del humo del tabaco. Se polimeriza fácilmente y la poliacrilamida tiene muchas aplicaciones en la industria química, por ejemplo como floculante para clarificar el agua de bebida, en polimerización *in situ* en presas y túneles, como aglutinante en la industria del papel, en cosmética, síntesis de genes en laboratorio, extracción de metales, industria textil, obtención de colorantes, entre otros.

Figura 1. Molécula de acrilamida



Fuente: Wikipedia. *Acrilamida*. <https://es.wikipedia.org>. Consulta: octubre 2017

Figura 2. **Propiedades fisicoquímicas de la acrilamida**

<ul style="list-style-type: none">• Nombre químico: 2-propenamida• Sinónimos: etilén carboxamida; amida acrílica; vinil amida.• Peso molecular: 71.09• Formula química: $\text{CH}_2\text{CHCONH}_2$• Punto de ebullición: 125°C• Punto de fusión: 87.5°C• Presión de vapor: 1.6 mm Hg a 85°C• Punto de inflamabilidad: 138°C• Solubilidad en agua: miscible.
--

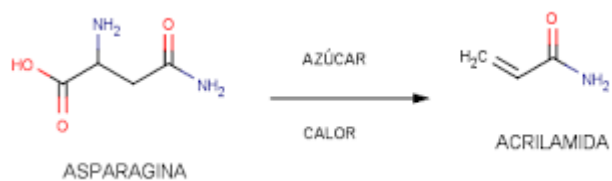
Fuente: Revista Chilena de nutrición, Vol°34, n°1, marzo de 2007.

La formación de acrilamida se inicia a partir de 120°C , alcanzando su formación óptima a 180°C , aunque se ha descrito que por encima de ciertas temperaturas se incrementa su destrucción (2). En productos de cereal, cuanto más a menudo se calienta, más se destruya la acrilamida. En algunos casos, altas temperaturas de horno han sido asociados con menos acrilamida, sugiriendo que hay reacciones simultáneas de formación y eliminación de esta.

2.2. Formación de la acrilamida: reacción de Maillard

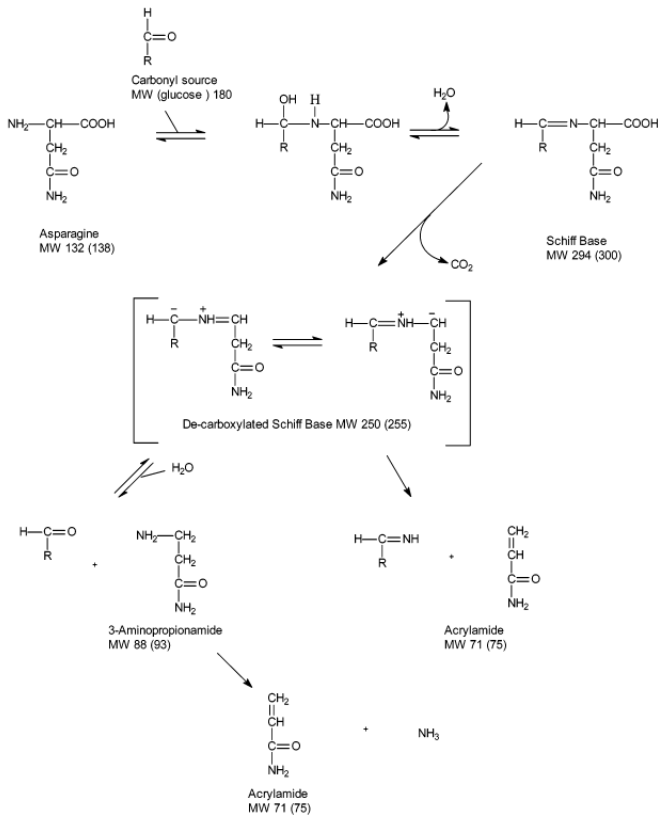
Diversos estudios comprobaron que durante el proceso de fritura o asado uno de los aminoácidos presente en los carbohidratos, la asparagina, se descompone en presencia de azúcares naturales y genera varios subproductos, uno de los cuales es la acrilamida.

Figura 3. **Reacción de Maillard para asparagina**



Fuente: B-CHYMICI .*Reacción de Maillard* bchymici.wordpress.com. Consulta: septiembre de 2017.

Figura 4. Mecanismo de la reacción de Maillard para asparagina



Fuente: ZYZAK, David et. al. *Acrylamide formation mechanism in heated foods*. Journal of Agricultural and Food Chemistry p. 4785.

2.3. Exposición a la acrilamida y riesgo de cáncer

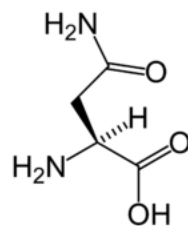
A partir de un extraño caso de propagación de cáncer en una población cercana a un río donde se dio un derrame accidental de acrilamida, se empezaron a realizar estudios en animales por exposición a la acrilamida. A estos se les suministró concentraciones conocidas de acrilamida en el agua potable para que bebieran. Estos desarrollaron enfermedades cancerígenas al ser expuestos a ciertas concentraciones durante un período de tiempo determinado.

El Programa Nacional de Toxicología (National Toxicology Program) y la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (International Agency for Research on Cancer) piensan que la acrilamida es un probable carcinógeno humano. Una serie de estudios de casos y controles ha investigado la relación que existe entre el consumo alimentario de acrilamida y el riesgo de presentar cánceres de la cavidad oral, faringe, esófago, laringe, intestino grueso, riñón, seno y ovario. También se ha mostrado que concentraciones altas de acrilamida en el lugar de trabajo causan daño neurológico.

2.4. Asparagina

La asparagina (abreviada como Asn o N) es uno de los 22 aminoácidos codificados en el código genético. Tiene un grupo carboxamida como su cadena lateral o grupo funcional. En el ser humano no es un aminoácido esencial. Sin embargo, está contenido en los cereales como el trigo, centeno, entre otros. El sistema nervioso requiere asparagina. También desempeña un papel importante en la síntesis de amoníaco.

Figura 5. **Molécula de asparagina**



Fuente: Wikipedia. *Asparagina*. <https://es.wikipedia.org>. Consulta: octubre del 2017.

2.4.1. Asparaginasa

La asparaginasa es una enzima que cataliza la hidrólisis de asparagina en ácido aspártico y amonio, siendo esta una forma muy efectiva de reducir la cantidad de acrilamida mediante la reducción de uno de sus precursores (asparagina) en la reacción de Maillard. La asparaginasa ha sido probada en una amplia variedad de productos alimenticios como galletas, pan y productos fritos a base de papa. La aplicación de esta enzima ha tenido resultados de 34 a 92 % de reducción del contenido de acrilamida en el producto final.²

La actividad de la asparaginasa es afectada por su dosis, el tiempo de reacción, temperatura y pH en el cual la reacción ocurre. El control del pH es crucial. Su mejor rendimiento se logra a pH ligeramente ácido (pH 5) y/o ligeramente básico (pH 9). También influye la cantidad de agua presente en la matriz del producto; a mayor concentración de agua, mayor es la producción de acrilamida, debido a una mayor movilidad de los precursores, contrariamente, por este mismo motivo, sería mayor la acción de la enzima para eliminar el contaminante. Otro factor que afectaría la actividad de la enzima es la cantidad de grasa utilizada en la formulación; a mayor concentración de grasa, menor la cantidad final de acrilamida, esto podría deberse a que la grasa obstaculizaría el contacto entre los precursores y, por lo tanto, la acción de la enzima sería mayo.

² ANESE, Monica; HENDRIKSEN, Hanne V. et al. *Acrylamide in Food Products: A Review*. Consulta: octubre de 2017.

2.5. Tipo de trigo (clasificación E.U.A.)

2.5.1. Trigo Hard Red Winter (HRW)

Es un trigo importante que se usa para la panificación. El 40 % de la producción de trigo de los E.U.A. es de este tipo y representa casi el 40 % de las exportaciones. Tiene un alto contenido proteínico, con un promedio de 12,8 % a 13,5 %, es rico en gluten y con buenas cualidades para la molienda. No existe ninguna subclase para esta variedad; se utiliza para la fabricación de pan con levadura de alta calidad y panecillos.

2.5.2. Trigo Soft Red Winter y Soft White Winter (SRW/SWW)

Es un trigo de alto rendimiento pero bajo en proteínas, usualmente entre 8 y 10 %. Se siembra en otoño y es usado principalmente para pastelería, panes sin levaduras, galletas *cracker* y bocadillos (*snacks*). Comprende el 17 % de la producción de E.U.A. y el 17 % de las exportaciones.

2.5.3. Trigo Dark Northern Spring (DNS)

Trigo duro rojo de primavera, con 75 % o más de granos oscuros, duros y vítreos. Se utiliza para elaboración de harinas panaderas, las cuales se emplean para la fabricación de todo tipo de panes; contiene en promedio entre 13 y 14 % de proteína. Por esto es que el proceso de panificación se considera de alta calidad proteica.

2.6. Elaboración del pan

2.6.1. Ingredientes para la elaboración de pan

2.6.1.1. Harina

Es el principal ingrediente en la composición del pan. La harina de trigo posee constituyentes aptos para la formación de masas (proteína-gluten), pues la harina y agua mezclados en determinadas proporciones producen una masa consistente. Esta es una masa tenaz, con ligazón entre sí, que en la mano ofrece una determinada resistencia, a la que puede darse la forma deseada para obtener el levantamiento de la masa y un adecuado desarrollo de volumen. La masa debe ser uniforme, con buena tenacidad y elasticidad, alta absorción y color brillante. La calidad de la misma es de suma importancia para el proceso, ya que determinará la calidad del producto final.

Se puede clasificar la harina por el porcentaje de proteína que contiene, que varía debido a la mezcla de trigos utilizados. Se clasifica de la siguiente manera:

- Harina extra fuerte: posee un alto porcentaje de proteína, alrededor del 13 %. Contiene un alto contenido de gluten, el cual requiere un amasado con más fuerza y se utiliza para preparar pastas y fideos.
- Harina fuerte: contiene un porcentaje de proteínas, entre 10 y 13 %, y se destina para panificación.
- Harinas débiles: están integradas por un porcentaje de proteína entre 7 a 8 %. Tienen bajo contenido de gluten, que proporciona una masa mucho más fácil de manipular, y se usa para la elaboración de bizcochería y galletas.

- Harinas especiales: son harinas para usos en específico, como la harina morena, que es más oscura debido a presencia de partículas de salvado de trigo; la harina integral, la cual contiene todas las partes del grano, por lo que es un alimento muy nutritivo; y harina de centeno, para la elaboración de panes especiales y regionales.

La harina debe tener ciertas características para poderse considerar harina de calidad y cumplir con los requisitos para panificación. Estas características son las siguientes:

- Color: debe tener un color blanco o cremoso, el porcentaje de extracción también determina el color de la harina; mientras más alta es la extracción, mayor cantidad de partículas de salvado tendrá y, por lo tanto, será más oscura.
- Fuerza: depende de la cantidad y calidad de proteína que posea la harina; según su fuerza, representará mayor o menor capacidad para resistir el trabajo mecánico que se da durante la elaboración de la masa. La fuerza logra dar un pan de buen volumen y presentación, con la elasticidad, resistencia y estabilidad necesarias para obtener un producto de buena calidad.
- Tolerancia: capacidad para soportar fermentaciones largas.
- Absorción: capacidad para absorber y retener agua.

Figura 6. **Ficha descriptiva de la harina**

DEFINICIÓN	
Producto finamente triturado obtenido de la molturación del grano de trigo	
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Humedad < 15 % ▪ Cenizas < 0,65 % sobre materia seca ▪ Gluten ≥ 5,5 % ▪ Acidez de la grasa ≤ 50 % en mg de potasa ▪ Proteína ≥ 9 % 	
PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS ¹	
MICROORGANISMO	LÍMITE (ufc/g)
Aerobios mesófilos (31°C ± 1°C)	< 10 g
Mohos	< 10 g
<i>Escherichia Coli</i>	< 10 g
<i>Salmonella</i>	Ausencia en 25 g
CARACTERES ORGANOLÉPTICOS	
<ul style="list-style-type: none"> - Tacto suave - Color blanco ligeramente amarillento - Ausencia de sabor a rancio, moho, ácido, amargo o dulce - Superficie de aspecto mate por compresión - Ausencia de objetos como pelos de roedores, restos de insectos 	

Fuente: Asociación Española de la Industria de Panadería, Bollería y Pastelería (ASEMAC). *Manual de Calidad de panadería, bollería y pastelería*. p.19

2.6.1.2. **Sal**

Se obtiene de salinas, lagos subterráneos y de minas. Para la elaboración de pan, la sal debe ser apta para alimentos, de preferencia fina para que se logre disolver bien en el agua, y su pureza debe ser mayor al 99,5 %. La sal tiene la función de mejorar el sabor, fortalecer el gluten, controlar la actividad de la levadura, resalta los sabores de otros ingredientes y ejerce una acción bactericida al impedir fermentaciones indeseables dentro de la masa.

2.6.1.3. **Levadura**

Son organismos, unicelulares y microscópicos, que pertenecen a la familia de los hongos, para uso industrial se seleccionan razas especiales para su uso en panificación. Para la elaboración del pan se utiliza la levadura *Sacharomice cerevisea*, que pasa por el proceso de fermentación, en el cual se transforman

los azúcares presentes en la harina en gas carbónico, alcohol y una serie de sustancias aromáticas, esto hace que la masa aumente de volumen y le da un valor nutritivo al proporcionar proteínas de muy buena calidad al pan. La temperatura de la levadura se debe controlar, ya que si es muy baja se retarda su actividad fermentadora, y si es muy elevada se acelera el proceso de fermentación, produciendo en corto tiempo sustancias que dan olor y sabor desagradable al pan. La levadura debe ser de color crema claro o blanco, inodora y con sabor agradable, con una consistencia firme plástica, nunca blanda ni pegajosa.

Figura 7. **Ficha descriptiva de la levadura**

DEFINICIÓN
La levadura líquida para panificación, es un producto alimenticio constituido por una suspensión de células vivas de levadura, fabricado a partir de cepas puras seleccionadas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS
<ul style="list-style-type: none"> - Estabilidad: manteniendo el bloque de levadura en termostato a 30°C, durante un mínimo de 3 días, no debe descomponerse ni desprender olores desagradables - Actividad fermentativa: será capaz de fermentar los azúcares presentes en la masa y en un tiempo de tres a cuatro horas. En la reglamentación correspondiente se indicará el método "standard" de determinación - Humedad: no superior al 75 % - Pureza: no contendrá microorganismos patógenos, no contendrá cargas amiláceas, ni contendrá otras materias extrañas a la levadura - Presentación: toda pastilla, bloque o recipiente que contenga levadura deberá llevar las indicaciones mencionadas en el capítulo IV y además la fecha de envasado en fábrica
PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS
<i>Coliformes fecales</i> < 1000 <i>Staphylococcus aureus</i> < 10/g <i>Salmonella</i> : Ausencia en 25 g
CARACTERES ORGANOLÉPTICOS
<ul style="list-style-type: none"> - Color: crema claro o blanco - Olor: ausencia - Gusto: sabor agradable - Textura: consistencia firme plástica, ni blanda ni pegajosa - Utilización: debe diluirse sin formar grumos

Asociación Española de la Industria de Panadería, Bollería y Pastelería (ASEMAC). *Manual de Calidad de panadería, bollería y pastelería*. p.22

2.6.1.4. Azúcar

Compuesto químico formado por carbón, hidrógeno y oxígeno. Las funciones del azúcar en la panificación son ayudar a la fermentación como alimento de la levadura, formar la corteza del pan debido a la caramelización del azúcar, evitar la pérdida de agua, ya que el azúcar es higroscópico, es decir que absorbe la humedad, aumentar el valor nutritivo y ayudar a la conservación del producto. Para el proceso de panificación se utiliza la sacarosa o azúcar de caña.

2.6.1.5. Materias grasas

De acuerdo a su fuente de origen, se clasifican en grasas animales y grasas vegetales. Para la panificación se utilizan grasas de origen animal, principalmente la manteca hidrogenada, mantequilla y margarina. Se usa para aumentar el valor nutritivo, ya que constituyen la principal fuente de energía al suministrar calorías; mejora el sabor y el aroma y también el volumen y la conservación de la masa.

2.6.1.6. Leche

Mayormente se utiliza leche en polvo, ya que su almacenamiento es más fácil y no necesita refrigeración, además tiene un manejo más fácil para su pesado y control. La leche funciona dentro de la panificación dándole color a la corteza, ya que la lactosa se carameliza dentro del proceso. La leche sirve para proporcionar una miga más suave, mejora el color de la cáscara, el sabor y la conservación del pan, además de aportarle valor nutritivo.

2.6.1.7. Huevos

Se emplean principalmente en la elaboración de masas dulces y pastelerías, ya que tienen la capacidad para formar emulsiones con las yemas y espuma con la clara, además ayuda a ligar el agua y estabilizar la corteza al coagularse sus proteínas durante el horneado. Al aplicar el huevo sobre la masa antes del horneado mejora el color y brillo de la cáscara.

2.6.2. Proceso de panificación

2.6.2.1. Pesaje de ingredientes

En esta etapa se toman los ingredientes a utilizar y, con base en la receta a elaborar, se realizan los pesajes de los mismos, esto se debe realizar con una balanza adecuada y calibrada para obtener los pesajes correctos, así como los contenedores necesarios y en buen estado para mantener la calidad e inocuidad del proceso.

2.6.2.2. Amasado

Una vez pesados los ingredientes como el agua, harina, sal y levadura, se mezclan de forma homogénea para formar un tipo de masa que se procede a amasar, es decir trabajar la mezcla formada a fin de airearla y hacerla flexible y elástica. La fermentación comienza en el amasado.

2.6.2.3. Primera fermentación

La masa se deja reposar de 10 a 30 minutos, esto se hace para que la masa se recupere del trabajo mecánico a la que ha sido sometida y para hacer que el trabajo de la levadura comience.

2.6.2.4. Corte

Cuando la masa ha alcanzado su punto de acondicionamiento adecuado, se procede a cortar la masa en pequeños bastones con un peso determinado según el gramaje deseado.

2.6.2.5. Ovillado

El ovillado o boleado consiste en cerrar las superficies de los bastones, dándole una forma esférica a los mismos, esto para reorientar la estructura del gluten al dar la forma de bola y lograr así un manejo más fácil para las operaciones siguientes.

2.6.2.6. Segunda fermentación

Una vez se ha ovillado la pieza, se debe dejar reposar unos minutos para que adquiera flexibilidad y poder darle su forma definitiva. Generalmente, la flexibilidad se consigue dejando que la masa repose, recorriendo un circuito de una cámara durante unos minutos. La duración de este proceso depende de las características de maduración de la masa necesarias en cada caso, según el tipo de proceso de elaboración. Esta fermentación se lleva a cabo en una cámara de fermentación.

2.6.2.7. Moldeado

Para un formado mecánico se debe someter la masa a tres fases, la primera el laminado, donde la bola de masa ya formada pasa por 2 rodillos que aplastan la masa para evitar que se desgarre, los rodillos deben abrirse y cerrarse, dependiendo del tamaño o del volumen de la pieza. La segunda fase es el enrollado, el cual consiste en plegar la torta de masa por una malla metálica, y la última fase es un alargamiento donde la masa enrollada pasa por distintas planchas de presión o por entre 2 tapices que dan vueltas en sentido inverso, asegurando así la longitud deseada de la barra.

2.6.2.8. Horneado

Esta etapa tiene como principal papel transformar la masa fermentada en pan. La cocción permite el paso del estado semilíquido del producto (masa) al estado sólido (pan). Las temperaturas del horno dependerán del tamaño de la pieza de masa, del tipo de receta y de los ingredientes básicos utilizados; el tiempo de cocción también dependerá de estos factores.

2.7. Propiedades reológicas de la masa

Las propiedades reológicas son aquellas que estudian las características de la masa al ser sometida a diferentes tipos de esfuerzo. Estas comprueban la calidad de la harina según haya sido destinada (panadería, pastelería, entre otros.).

2.7.1. Extensibilidad

Esta propiedad se mide con el alveógrafo Chopin. El gluten está formado por gluteninas que aportan extensibilidad y gliadinas que aportan elasticidad o tenacidad. Esta fuerza viene determinada por la cantidad de gluten (que representa el 80 % de la proteína) de la harina, a mayor cantidad de gluten mayor Fuerza (W), y se conocen estas harinas por los dos tipos fundamentales que venden en los lineales de los supermercados: harina de trigo normal y harina de trigo especial para repostería, pero es posible encontrar alguna más:

- Harina floja, débil o pastelera ($W < 100$) (hasta 10 % de gluten): buena en el uso de repostería para el uso de levaduras químicas (bizcochos, tortitas, masas quebradas, entre otros).
- Harina de fuerza media o panadera ($100 < W < 150$) (entre el 10-11,5 % de gluten): harinas para el uso con levadura propia de panadería, para masas de pizza, hojaldres, entre otros.
- Harina fuerte ($150 < W < 200$) (entre 11,5-13,5 % de gluten) y harina de gran fuerza ($W > 200$) (más de 13,5 % gluten): harinas recomendadas también para el uso en panadería. Se utilizarán unas harinas con mayor o menor fuerza en panadería, en función de querer conseguir panes más compactos o más ligeros.

2.7.2. Absorción

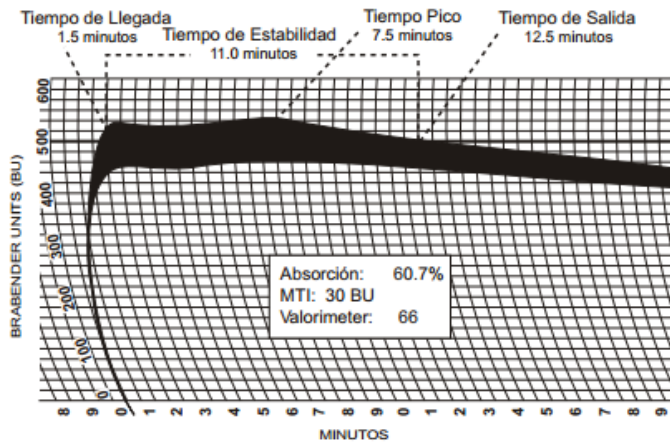
Es medida por el farinógrafo como un indicador de la habilidad de la harina para retener agua mientras mantiene su consistencia. Un alto nivel de proteína y almidón dañado dan una alta absorción, lo cual es bueno para el desempeño de la panificación, ya que esto incrementa el rendimiento del producto

terminado y mejora la vida de anaquel. Los niveles típicos de absorción para harinas panaderas van de 58 a 66 % en harinas blancas.

2.7.3. Farinograma

La curva del farinógrafo provee de información muy útil para la panadería, ya que da una guía para elaborar productos consistentes con harinas de diferentes calidades. El farinógrafo es utilizado para determinar la estabilidad y tenacidad de la harina y para predecir las características del proceso, tales como la absorción de agua y el tiempo de mezclado.

Figura 8. Farinograma



Fuente: Lallemand México y American Yeast Sales. *Tecnología práctica de Lallemand Inc.*

<http://lallemandmexico.com>. Consulta : agosto 2017.

- Tiempo de llegada es el tiempo requerido por la curva para alcanzar la línea de las 500 unidades Bravender. Esto da el promedio de hidratación de la harina.
- Tiempo pico, este es el tiempo requerido por la harina para alcanzar el desarrollo total. Esto indica el tiempo óptimo de mezclado de la masa.

- Tiempo de salida (*departure time*), es el tiempo en el cual la curva deja las 500 unidades Bravender.

Tiempo de estabilidad (*stability time*), es el intervalo entre el tiempo de llegada y el tiempo de salida. A esto también se le llama tolerancia de la harina al sobre mezclado o al submezclado. Un valor alto significa que la harina es más tolerante.

2.8. Propiedades organolépticas del pan

La calidad sensorial del pan se percibe a partir de los sentidos de la vista, olfato, gusto, oído y tacto. Juega un papel muy importante en la dimensión de la calidad total del producto. Desde el punto de vista del consumidor, la calidad sensorial es uno de los factores más importantes para la aceptación de un producto. Al momento de adquirirlo, el consumidor mide únicamente estas propiedades para saber si es de buen paladar o no.

2.8.1. Color y forma

Se juzga a partir de la corteza, principalmente. La forma y el color de la misma son las que resaltan a la vista. El color de la corteza se desarrolla durante la etapa de la cocción del pan y está asociado a las reacciones de Maillard y de caramelización, que producen compuestos que afectan al color. Esta propiedad se ve directamente relacionada con el contenido de acrilamida presente en el pan.

2.8.2. Olor

El olor del pan es otro de los factores determinantes en la aceptación por el consumidor. Aunque han sido identificados un gran número de compuestos

volátiles relacionados con el aroma del pan, solo unos pocos tienen una incidencia determinante en su olor final. Se originan por la actividad enzimática durante el amasado, por el metabolismo de las levaduras y las bacterias lácticas durante la fermentación de la masa, así como por las reacciones de oxidación de los lípidos y las reacciones térmicas durante la cocción, principalmente reacciones de Maillard y de caramelización.

2.8.3. Textura

La textura de la miga del pan está relacionada con la cantidad de agua añadida a la masa y con el posible empleo de harinas especiales en el proceso, pero los factores más determinantes son la cantidad y la calidad de la proteína. La percepción de los atributos de textura por paneles de jueces entrenados se suele realizar en dos etapas diferenciadas: fase táctil, en la que se comprime la miga con el dedo y se evalúan atributos tales como la compacidad y la elasticidad, y una segunda fase en la que se introduce la miga de pan en la boca y se evalúan humedad, adhesividad y cohesividad.

2.8.4. Sabor

El sabor es, por tanto, la percepción simultánea del sabor, el aroma y la respuesta del nervio trigeminal. El sabor del pan no puede ser explicado únicamente por sus compuestos volátiles. Atributos tales como dulce, ácido, salado, amargo, mantequilla, son utilizados habitualmente en los perfiles descriptivos. Factores tales como el microorganismo empleado para la fermentación, el contenido de cenizas de la harina (relacionado con la tasa de extracción) o la temperatura de fermentación influyen sobre el sabor del pan.

2.8.5. Panel sensorial

Se pueden distinguir dos tipos de métodos. Por un lado, los métodos afectivos (*tests* de aceptación de consumidores) que permiten evaluar la actitud del consumidor respecto a aspectos como atributos relacionados con la calidad del pan y la decisión de compra, influencia del origen sociocultural, percepción de la frescura, actitud del consumidor hacia los panes ecológicos y desarrollo de nuevos productos de panificación.

Por otro lado, la utilización de métodos analíticos (análisis descriptivos sensoriales) en los se utilizan paneles de jueces entrenados, que permiten la elaboración del perfil sensorial de un determinado pan. Los jueces deberán estar particularmente familiarizados con los descriptores sensoriales y la intensidad de cada atributo mediante el empleo de definiciones verbales que describan los extremos de las escalas de intensidad de los atributos.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Variables

Durante el desarrollo experimental se tomaron en cuenta las variables que, según se considera, afectan a la formación y/o medición de acrilamida:

- Variables independientes: no dependen de otros factores. En el experimento se tomó en cuenta:
 - Cantidad de Asparaginasa agregada a la muestra
 - Tipo de harina (mezcla de trigos)

- Variables dependientes:
 - Concentración de acrilamida en muestra de pan
 - Contenido proteico del pan
 - Dureza de la masa
 - Extensibilidad de la masa
 - Propiedades organolépticas del pan (color, olor, sabor)

3.2. Delimitación del estudio

El estudio se delimitó a la producción de pan francés a nivel de panadería, en horno eléctrico y con una mezcla formulada tradicional de la Ciudad de Guatemala. La harina utilizada fue de trigo tipo duro, con un

porcentaje de proteína mínimo del 13 %, y con harina suave, con un mínimo de proteína de 11 %, dichas harinas corresponden a mezclas de tipos de trigos.

3.3. Recursos humanos disponibles

Los recursos humanos son todas aquellas personas que participan directamente en la ejecución, elaboración, supervisión y revisión del estudio a nivel de trabajo de graduación.

- Desarrollo del proyecto: Mario Francisco Rousselin Morales
- Asesor: Ing. Mario Francisco Rousselin Sandoval
- Coasesora: Inga. Liuba Cabrera de Villagrán

3.4. Recursos materiales

Son todos aquellos recursos utilizados para llevar a cabo cada proceso de muestreo. Se requiere lo siguiente:

- Acetonitrilo grado HPLC
- Metanol grado HPLC
- Ácido acético glacial (cas 64-19-7)
- Agua grado HPLC
- Soluciones Carrez I y II
- Para estandarizar se requerirá:
 - Acrilamida 99 % (148571) (CAS 79-06-1)
 - Metacrilamida

- El material de laboratorio a utilizar será:
 - Tubos Falcón de polipropileno 0 ml con tapa
 - Pipetas Pasteur
 - Viales de vidrio autosampler
 - Micropipeta de 100-1000 μL
 - Micropipeta de 1000-5000 μL

- Para el análisis en el cromatógrafo se requiere el siguiente equipo:
 - Cromatógrafo de líquidos HP 1100 Hewlett-Packard. Equipado con desgasificador, sistema de bombeo cuaternario, inyector automático y detector de UV variable.
 - Balanza analítica.
 - Balanza semianalítica.
 - Centrífuga.
 - Baño María.
 - Agitador de plataforma.
 - Equipo de filtración rápida.

- Para la preparación del pan se requiere:
 - Horno de gas con termómetro
 - Rodillos para desarrollar gluten
 - Moldes para hornear
 - Recipiente para mezclar masa
 - Rodillo de madera
 - Cuchillo

- Para la medición de las propiedades reológicas de la harina se requiere:
 - Alveógrafo de Chopin
 - Farinógrafo
 - Termómetro
 - Frasco lavador
 - Erlenmeyer 250ml.
 - Marcadores de tinta
 - Papel para farinógrafo
 - Espátula plástica
 - Bureta para farinógrafo
 - Depósito para pesar la harina
 - Balón aforado de 1 L
 - Bureta para alveógrafo

- Para la medición de propiedades sensoriales se requiere:
 - Mesa
 - Lapiceros
 - Servilletas
 - Fotocopias de tabla de evaluación

3.4.1. Infraestructura

- Las mediciones fueron realizadas en el Laboratorio de Toxicología Julio Valladares Márquez, perteneciente a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

- Las mediciones de las propiedades reológicas de la masa y el panel sensorial se realizaron en el laboratorio de control de calidad de un molino de trigo en Guatemala.

3.5. Técnica cuantitativa

3.5.1. Preparación de pan francés

Para preparar 920g de harina se requiere:

Tabla I. **Ingredientes para pan francés**

	Porcentaje	g
Harina	100	920
Azúcar	2,5	23
Sal	1,5	13,8
Levadura	3,04	28
Manteca	2,5	23

Fuente: elaboración propia

- Una vez mezclado todo en el recipiente, se agrega agua hasta lograr una masa consistente. Esta se amasa y se desarrolla en rodillos hasta obtener una consistencia óptima para la panificación.
- La masa se hace pequeñas bolas según el tamaño deseado, y se dejan reposar por un tiempo de alrededor de 15 minutos para que pueda fermentar.
- Se procede a formar las pequeñas tiras de forma y tamaño deseado, estas se deben estirar y verificar que tengan la resistencia óptima.
- Se introduce el pan al horno durante 30-40 minutos. Se retira del horno y se deja enfriar.

3.5.2. Preparación de pan dulce

Para la preparación de 920g de harina en pan dulce se requerirá:

Tabla II. **Receta de pan dulce**

	Porcentaje	g
Harina	100	920
Azúcar	2,93	27
Sal	9,3	9,3
Levadura	3,04	28
Manteca	5,22	48

Fuente: elaboración propia.

- Una vez mezclado todo en el recipiente, se agrega agua hasta lograr una masa consistente. Esta se amasa y se desarrolla en rodillos hasta obtener una consistencia óptima para la panificación.
- La masa se hace pequeñas bolas según el tamaño deseado, y se dejan reposar por un tiempo de alrededor de 15 minutos para que pueda fermentar.
- Se procede a formar las pequeñas tiras de forma y tamaño deseado, estas se deben estirar y verificar que tengan la resistencia óptima.
- Se introduce el pan al horno durante 30-40 minutos. Se retira del horno y se deja enfriar.

3.5.3. Preparación de solución estándar de acrilamida

Pesar 10 mg de acrilamida y transferir a un matraz volumétrico de 10 mL se debe aforar con agua grado HPLC.

3.5.4. Preparación de solución para pruebas cromatográficas (20ppm)

Diluir 30 μ L de la solución *stock* de acrilamida hasta 1,5 mL.

3.5.5. Solución estándar

Para la preparación de la solución de *stock* se pesan 100 mg de acrilamida y se disuelven en acetonitrilo hasta un volumen final de 100 mL. A partir de esta se realizan disoluciones de trabajo de 1 y 10 μ g/mL. Se almacenan a 4°C.

3.5.6. Preparación de muestras

Se prepara pan francés según la receta tradicional y se pulveriza para obtener migajas.

3.5.7. Tratamiento con Carrez I y II (precipitación acrilamida)

- La muestra (1g) se pesó en tubo falcón en una balanza analítica marca Swiss Quality.
- Se añadieron a la muestra 5 ml de estándar interno de una solución de 1 ppm; transcurridos 10 minutos, se adicionó 10 ml de agua grado HPLC.
- Se calentó a 60°C por 30 minutos en un baño termostático.
- Se dejó enfriar y se agitó por 10 min en un *vortex*.
- Se agregó 2 ml de solución de Carrez I y II, respectivamente, luego se enrasó el tubo falcón hasta 50 ml, se agitó en *vortex* por 10 minutos y se dejó decantar por toda una noche.

- Al día siguiente se rescató el sobrenadante y se transfirió a un tubo *ependorf* para luego ser centrifugado a 800 rpm por 5 minutos.
- Se filtró el líquido recuperado en viales de 100µL.

3.5.8. Utilización del HPLC

Se utilizó el software EZ Chrom Elite[®] para obtener las lecturas gráficas del HPLC. El programa se calibró para que inyectara 30µL al HPLC a una temperatura de 20°C y con una longitud de onda de 210nm.

3.5.9. Utilización de alveógrafo

- Encender el termostato y la circulación de agua antes de su uso.
- Ajustar el termostato del alveógrafo para mantener la temperatura a 20°C.
- Colocar en ON el *switch* amarillo situado atrás del aparato.
- Conectar el mezclador y el alveógrafo, colocando en ON el botón MARCHE que se encuentra en ambas partes.
- Verificar que la temperatura del mezclador y del alveógrafo esté a 24°C +/- 0,5°C y 25°C +/- 0,5°C, respectivamente. Encender el *alveolink* con el botón negro, ubicado en la parte trasera.
- Encender la impresora con la tecla *Power*.

*Nota: el aparato debe estar en un cuarto a una temperatura entre 18 y 22 °C.

Calibrar el alveógrafo diariamente usando el *alveolink* de acuerdo a los siguientes pasos:

- Colocar el tapón negro de calibración en el alveógrafo. Seleccionar el menú CALIBRACIÓN como se indica en la pantalla del *alveolink* y presionar la curva 1.
- Encender el alveógrafo colocando la manecilla en posición 2 y ajustar el nivel de la derecha en la pantalla del *alveolink* en 92. (Con botón de bomba de aire del alveógrafo). Utilizar el botón “I” para dar este ajuste por reconocido. Luego ajustar el nivel de la izquierda en 60, validado con el botón OK.
- Ambos niveles en el ajuste deberán cambiar de rojo a verde, de lo contrario significará que están por encima o por debajo de los valores idóneos y la prueba no podrá llevarse a cabo.
- Las tolerancias de ajuste son de 92 +/- 4 mm y 60 +/- 2 mm. El *alveolink* controla estabilidad del ajuste durante 3 segundos.
- Apagar el alveógrafo colocando la manecilla en posición 1 y pulsar el botón “I” en la pantalla del *alveolink* para salir del menú de calibrado.

Se debe proceder al amasado de la harina como se indica a continuación:

- Colocar 250 +/- 0,5 g de harina en la amasadora. Cerrar la tapa y fijarla con el tornillo de apriete.
- Simultáneamente, encender el motor de la amasadora (colocando el interruptor situado en el tablero de mandos en posición ON, el cual enciende también el cronómetro). También debe encenderse el botón de seguro situado en la parte trasera de la amasadora y agregar la cantidad de cloruro de sodio por el agujero de la tapa.
- La adición de NaCl debe ser completada en 20 segundos.
- Dejar que la masa se forme por 1 minuto. Transcurrido este, levantar la tapa de la amasadora, lo que hará detenerse el motor e incorporar hacia abajo la harina adicionada en las paredes y la tapa con una espátula

plástica para hidratar toda la harina. Esta operación debe completarse en 45 segundos.

- Después de transcurridos 2 minutos en total, reencender la amasadora pulsando el botón de seguro y permitir la mezcla continua por 6 minutos más. Después de un total de 8 minutos de mezclado, colocar el interruptor de extracción hacia abajo y proceder a la extracción de las piezas de prueba.

La extracción de las piezas de prueba se hará de la siguiente manera:

- Después de 5 minutos de que la masa está siendo mezclada, usar un frasco gotero y colocar 5 gotas de aceite sobre el plato de la puerta de extracción, 3 gotas arriba del plato, 20 gotas en el plato del rodillo, 5 gotas en el rodillo y 5 gotas en cada lámina de reposo. Esparcir el aceite uniformemente en toda la superficie con una brocha delgada.
- Levantar la platina que permite el paso para la extracción de la masa. Cortar y descartar los primeros 2 cm. de masa.
- Cuando las tiras de masa alcanzan la línea indicada con unas pequeñas ranuras en el plato de extracción, se debe cortar la masa con un movimiento rápido y vertical con una espátula-cuchillo provista por el equipo. Después de la primera tira de masa, se debe colocar 3 gotas de aceite sobre el plato de extracción y 2 gotas arriba del mismo, con cada una de las extracciones.
- Colocar las cuatro primeras piezas de masa en la mesa de laminado y la quinta pieza dejarla en espera sobre la placa de extracción.
- Pasar el rodillo, deslizándolo sobre los rieles de la mesa de laminado sobre las primeras cuatro muestras 12 veces de un lado a otros (seis movimientos de forma rápida seguidos de 6 más lentos) y cortar las piezas con la cortadora circular. Retirar la masa sobrante y con un ligero

golpe colocar la masa en la lámina de reposo. Si la pieza de masa se pega en el plato, levantar un poco y deslizar la lámina de reposo debajo de ella. (No tocar las piezas de masa con los dedos). Inmediatamente transferir las láminas al compartimiento de reposo del alveógrafo. Proceder en orden de extracción, colocando la primera pieza en la parte de arriba del compartimiento de reposo.

- Después de que el proceso ha llegado a los 28 minutos, se procede a graficar.

Proceder a la elaboración del álveo grama de la siguiente manera:

- Colocar la primera pieza de masa en el centro de la platina fija aceitada previamente con 3 gotas de aceite y desenroscada dos vueltas dejándola a nivel de los tres pernos de guiado. Aceitar el tapón con dos gotas de aceite.
- Apretar la masa girando la platina superior, retirar el tapón (deberá utilizarse el tapón amarillo para la elaboración del álveo grama) y abrir la manecilla del alveógrafo a la posición 2. La masa empieza a formar una burbuja y a registrar la curva en el *alveolink*.
- Observar cuidadosamente la burbuja y, cuando sea evidente la ruptura, colocar la manecilla en la posición 1, lo que provoca la detención del suministro de aire.
- Aflojar la platina superior, retirar los restos de la masa y proceder de igual forma con la siguiente pieza de masa, sin olvidarse de volver a aceitar la platina con 2 gotas de aceite y el tapón con una gota más.
- Al final de las cinco piezas, el *alveolink* calcula media de las curvas automáticamente y registra los resultados.

- Identificar la prueba introduciendo los datos de la muestra de harina en el *alveolink* e imprimir la curva. Si una de las curvas presenta alguna anomalía, se puede no tener en cuenta para la media de la prueba.

3.5.10. Utilización del farinógrafo

- Encender el termostato y la circulación de agua 1 hora antes de su uso.
- Ajustar el termostato del farinógrafo para mantener la temperatura del tazón a 30°C +/- 01.
- Asegurarse que el papel corre de forma exactamente horizontal y vertical, y verificar el nivel de tinta en el aparato.
- Determinar la humedad de la harina y la exactitud del valor es muy importante.
- Al inicio del día y antes de cada prueba, lubricar el tazón con unas gotas de agua, agregadas con frasco lavador, poner a trabajar vacío el aparato y limpiarlo para remover la oxidación que haya formado el metal.
- Pesar 300g +/- 0.1g de harina a 14 % de humedad. Ver la cantidad de harina a usar en la tabla de corrección de peso con base en contenido de humedad, y colocar en la cámara de mezclado.
- Llenar la bureta con agua destilada a 30°C, asegurándose de ajustar a cero.
- Ajustar el marcador y colocarlo en contacto con la posición del minuto 9 en el papel.
- Encender el aparato a alta velocidad y mezclar la harina en seco por un mínimo de 1 minuto, mientras la línea del minuto cero es alcanzada. En ese instante, empezar a adicionar el agua por la esquina derecha del frente de la cámara, en cantidad necesaria para centrar la curva en la línea de 500 B.U.

- Cuando la masa empieza a formarse, limpiar los lados de la cámara bajando la harina con espátula plástica, empezando del lado derecho, frente y siguiendo en el sentido de las agujas del reloj. Cubrir con tapadera y permitir que la curva desarrolle.
- La primera curva rara vez se produce centrada en la línea de 500 B.U., por lo tanto, en las subsecuentes curvas ajustar la absorción, ya sea para arriba o para abajo, adicionando o disminuyendo agua. Cada línea horizontal del papel corresponde a 20 B.U., y por cada línea la corrección correspondiente es aproximadamente 0,6-0,8 % de absorción (1,8-2,4ml. de agua), dependiendo del tipo de harina. Cuando la absorción correcta se logra, la curva en el máximo desarrollo de la masa es centrada en la línea 500 B.U.

*Nota: cuando se desconoce el porcentaje de absorción de agua de la harina para analizar, puede realizarse una titulación de la muestra, la cual consiste en agregar a la harina la cantidad de agua necesaria, hasta que la curva alcance la línea de 500 B.U. Una vez lograda la absorción correcta se repite la curva con la cantidad de agua determinada.

- Terminada la prueba, remover el marcador del diagrama.
- Realizar la limpieza de la cámara de muestra agregando una pequeña cantidad de agua y dejando el aparato trabajar por unos minutos. Detener el aparato, remover la cámara de prueba y la masa. Raspar hacia fuera cualquier partícula que haya quedado en la cámara, rociar con agua y limpiar con paño húmedo.
- Encender y apagar el interruptor por intervalos, para remover toda la masa posible de los alrededores.
- Nunca poner las manos cerca de las paletas cuando estén en movimiento.

- Secar completamente la cámara y las paletas mezcladoras con una toalla limpia.

3.5.11. Pruebas sensoriales

Se cita a los panelistas, conocedores en la materia, a una hora específica donde estará servida una porción de pan con cada nivel de asparagina. Deberán degustar cada una de las muestras y evaluar cada propiedad, calificando del 1 al 5, donde 5 es la calificación más alta, cada muestra. Como referencia se tendrá una muestra clásica sin ningún tipo de aditivo. Cualquier observación deberá ser anotada también.

3.6. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

3.6.1. Tabulación y ordenamiento

Como primer paso se recolectó las alturas graficadas en el cromatograma de los estándares de acrilamida y metacrilamida como estándar interno (SI) preparado. La información se recolectó en una tabla ejemplificada a continuación:

Tabla III. **Recolección de datos de alturas asociadas a concentración de acrilamida y metacrilamida de estándares**

Hora/Fecha		
ppm		
#	ALTURA	ALTURA SI
1		
2		
3		
4		
5		

Fuente: elaboración propia.

Se elaboró una función a partir de dichos datos. Se prepararon las muestras y se introdujeron en el HPLC, donde se recolectó de la siguiente manera las alturas de la acrilamida y el estándar interno de metacrilamida:

Tabla IV. **Recolección de datos de alturas asociadas da concentración de acrilamida y metacrilamida de muestras de pan**

Hora/Fecha		
Muestra		
#	ALTURA	ALTURA SI
1		
2		
3		
4		
5		

Fuente: elaboración propia

En el momento en que se realizaron las pruebas reológicas en la masa se utilizó una tabla para recolectar todos los datos necesarios de la siguiente manera:

Tabla V. Recolección de datos de propiedades reológicas de la masa

Tipo de harina				Fecha	
LOTE				Hora	
PPM	HUMEDAD	PROTEÍNA	ABSORCIÓN	CENIZAS	
0					
50					
75					
100					
150					

Fuente: elaboración propia.

Por último, se realizó la prueba sensorial, en la cual se le otorgó a cada juez una muestra de cada pan con diferente cantidad de asparaginasa y una tabla estructurada para calificación:

Tabla VI. Tabla de evaluación sensorial

Fecha				
Hora				
Nombre				
Muestra a evaluar	50ppm	75ppm	100ppm	150ppm
Aspecto a evaluar	Calificación			
Color				
Olor				
Textura				
Sabor				

Fuente: elaboración propia.

3.6.2. Procesamiento de la información

Los datos ordenados se tabularon, ordenaron y procesaron en el software de hojas de cálculo Microsoft Excel 2013 y sus complementos. De esta manera se realizaron los análisis numéricos debidos para procesar y concluir en la información obtenida.

3.7. Análisis estadístico

Se utilizó un análisis de varianza tipo ANOVA para un factor, por medio de Microsoft Excel 2013 y uno de sus complementos.

3.7.1. Ordenamiento de datos

Para un experimento de un factor se obtienen observaciones para una cantidad de a tratamientos con b repeticiones cada uno. Se representa entonces con una tabla de a columnas y b filas.

Tabla VII. Clasificación para análisis de varianza (ANOVA)

Tratamiento 1	Tratamiento 2	...	Tratamiento a
X11	X12		X1a
X21	X22		X2a
...
Xb1	Xb2		Xba

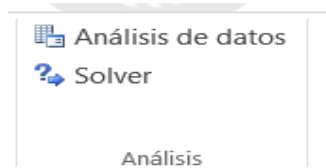
Fuente: elaboración propia.

3.7.2. Procesamiento de los datos

- Ordenar los datos de acuerdo a la tabla VII.

- Instalar el complemento de Microsoft Excel 2013® “Análisis de datos”, en la sección “Herramientas para análisis”, siguiendo el algoritmo:
 - Archivo → Opciones → Complementos → Herramientas para análisis → Aceptar

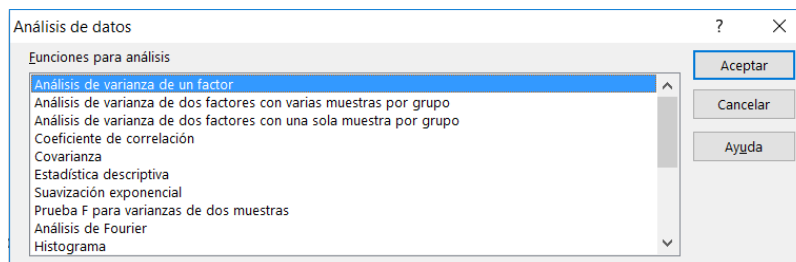
Figura 9. **Análisis de datos**



Fuente: elaboración propia.

- Al utilizar dicha opción se selecciona “Análisis de varianza de un factor” y se debe hacer clic en “Aceptar”.

Figura 10. **Selección de función de análisis**



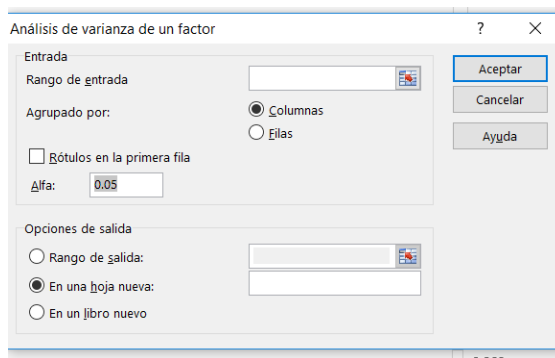
Fuente: elaboración propia.

- Se introducen los parámetros a analizar. En el rango de entrada se selecciona los datos de la tabla a analizar. El factor α es el grado de

confianza seleccionado por el investigador. En este caso se trabajará con un 95 % de confianza.

- Se selecciona “Columnas” por el ordenamiento que se hizo en la tabla VII.

Figura 11. Selección de parámetros para ANOVA en Microsoft Excel



Fuente: elaboración propia.

3.7.3. Resultado e interpretación de ANOVA

Como resultado de los pasos anteriores, Microsoft Excel 2013® devolverá 2 tablas:

- Resumen: esta tabla resume los datos estadísticos de las columnas analizadas.

Tabla VIII. **Tabla de resumen estadístico en ANOVA en Microsoft Excel 2013®**

RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
0	4	9.447	2.362	0.002
50	4	8.641	2.160	0.001
75	4	8.103	2.026	0.009
100	4	7.884	1.971	0.002
150	4	8.363	2.091	0.005

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel 2013.

Los diferentes campos son:

- Grupos: hace referencia al tratamiento realizado, en este caso a la concentración de asparaginasa de la muestra.
- Cuenta: es el número de mediciones realizadas o bien de repeticiones.
- Suma: devuelve la suma total de los resultados de la columna.
- Promedio: el resultado de cada columna analizada.
- Varianza: la variante que existe entre los datos del grupo.
- Análisis de varianza: devuelve el resultado de los cálculos estadísticos que permiten aprobar o reprobar las hipótesis alternativas y nulas.

Figura 12. **Tabla de análisis de varianza en Microsoft Excel 2013®**

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.368	9.000	0.041	7.001	0.003	3.020
Dentro de los grupos	0.058	10.000	0.006			
Total	0.426	19.000				

Fuente: elaboración propia.

Se pueden relevar los siguientes campos:

- Origen de las variaciones: se refiere a cómo se evaluó la variación, si dentro o entre grupos:
 - Entre grupos: la variación existente entre los grupos evaluados.
 - Dentro de los grupos: la variación existente entre los datos de cada grupo.
- Suma de cuadrados: es la sumatoria de los datos elevados al cuadrado individualmente.
- Grados de libertad:
 - Entre grupos: es equivalente a “a-1”
 - Dentro de los grupos: es equivalente a “a-n”
- Promedio de los cuadrados: mide la variación.
- F: se calcula con el promedio de los cuadrados y sirve para probar la hipótesis.
- Valor crítico para F: valor de $F_{0.95}$ teórico.

3.7.4. Análisis de los resultados del ANOVA

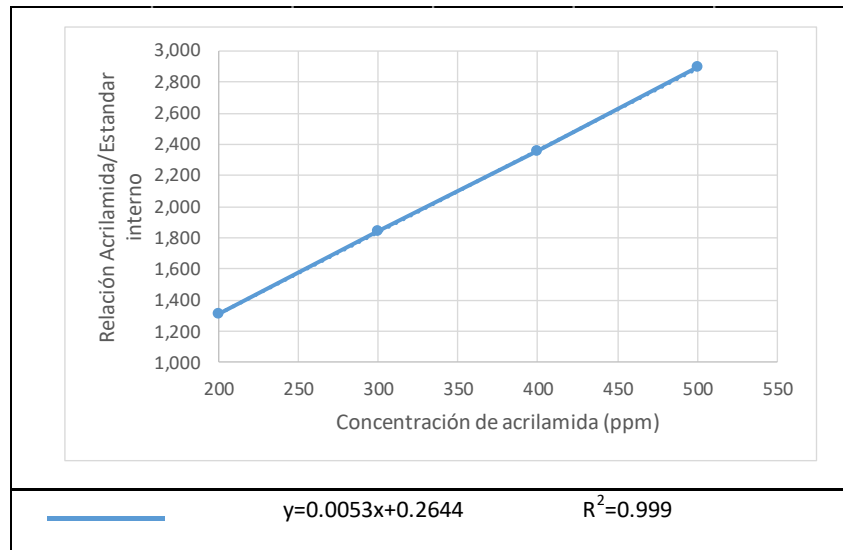
A partir de la comparación entre F y $F_{0.95}$ se determina si se rechaza o se acepta la hipótesis planteada:

- Si $F > F_{0.95}$: se rechaza la hipótesis nula, por tanto se concluye que sí existe variación en la concentración de acrilamida en el pan conforme se varía la cantidad de asparaginasa agregada a la mezcla formulada.
- Si $F < F_{0.95}$: se acepta la hipótesis nula, por tanto se concluye que no existe variación en la concentración de acrilamida en el pan conforme se varía la cantidad de asparaginasa agregada a la mezcla formulada.

4. RESULTADOS

4.1. Calibración del HPLC a partir de estándares

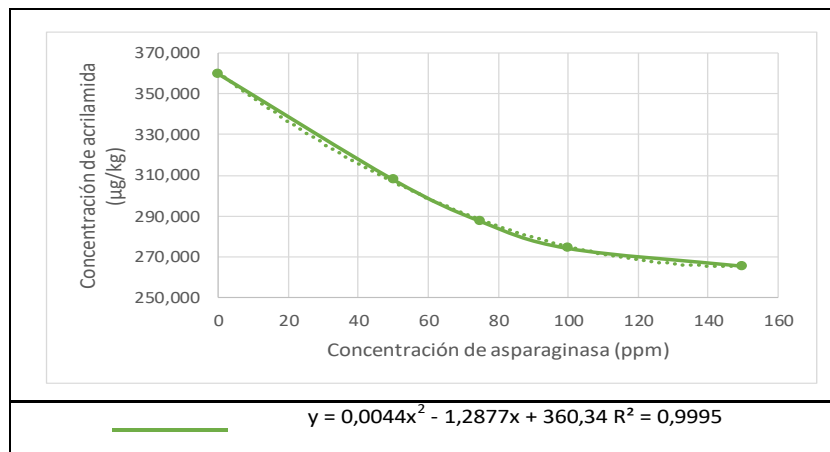
Figura 13. **Relación de alturas entre acrilamida y estándar interno de metacrilamida para las soluciones estándar**



Fuente: elaboración propia.

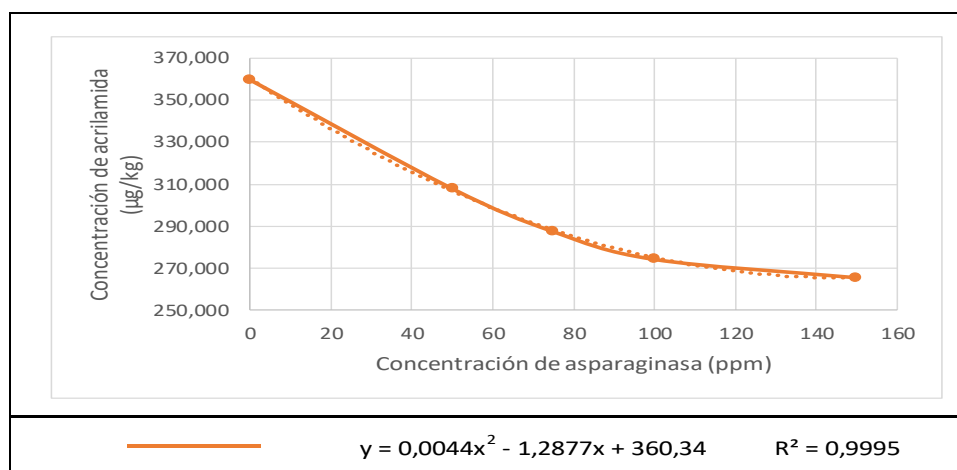
4.2. Evaluación de la concentración de acrilamida en el pan francés y pan dulce tostado

Figura 14. **Concentración de acrilamida en el pan francés con respecto a la cantidad de asparaginasa agregada**



Fuente: elaboración propia.

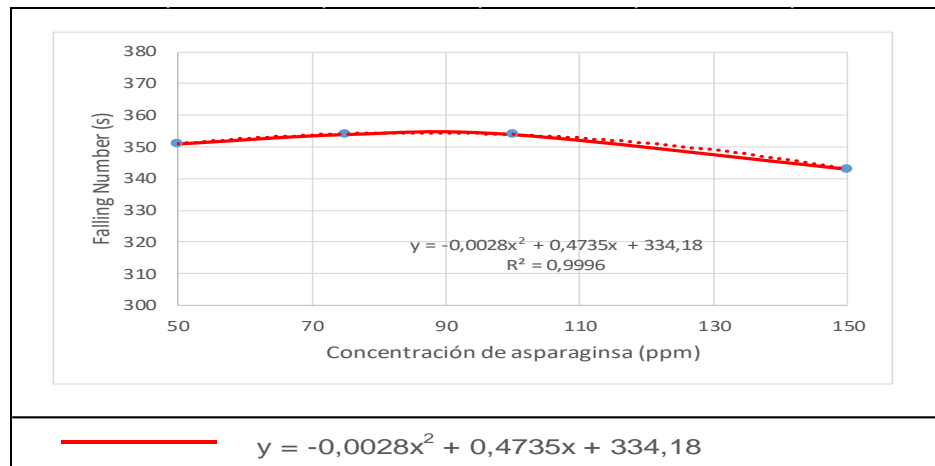
Figura 15. **Concentración de acrilamida en el pan dulce tostado con respecto a la cantidad de asparaginasa agregada.**



Fuente: elaboración propia.

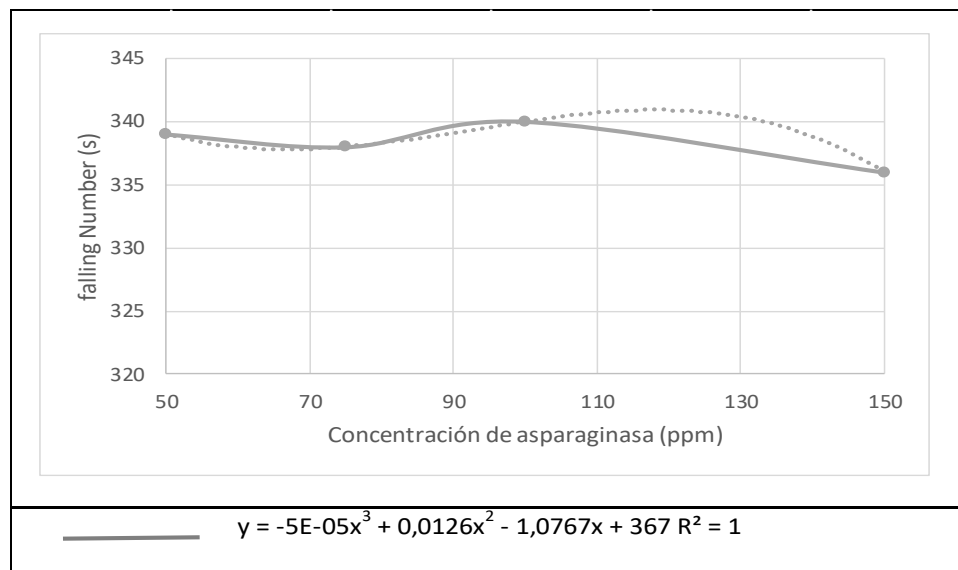
4.3. Propiedades reológicas de la masa

Figura 16. **Medición de *falling number* para las muestras con asparaginasa para harina tipo dura**



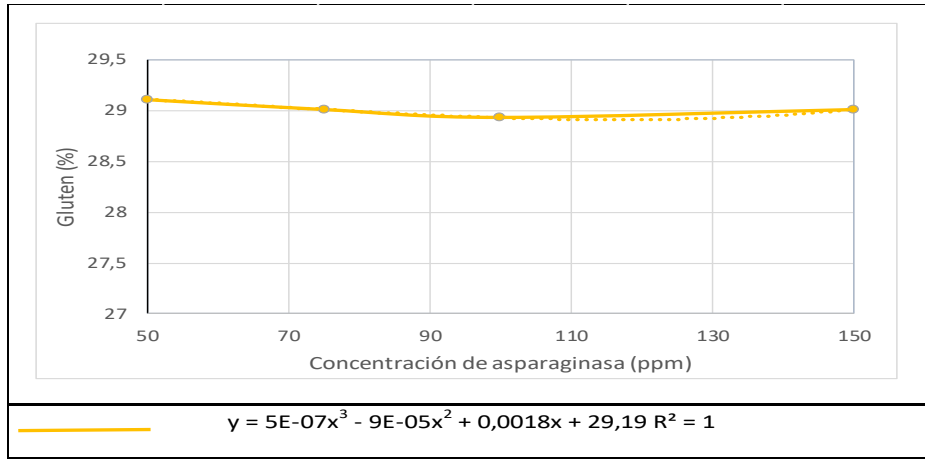
Fuente: elaboración propia.

Figura 17. **Medición de *falling number* para las muestras con asparaginasa para harina tipo suave**



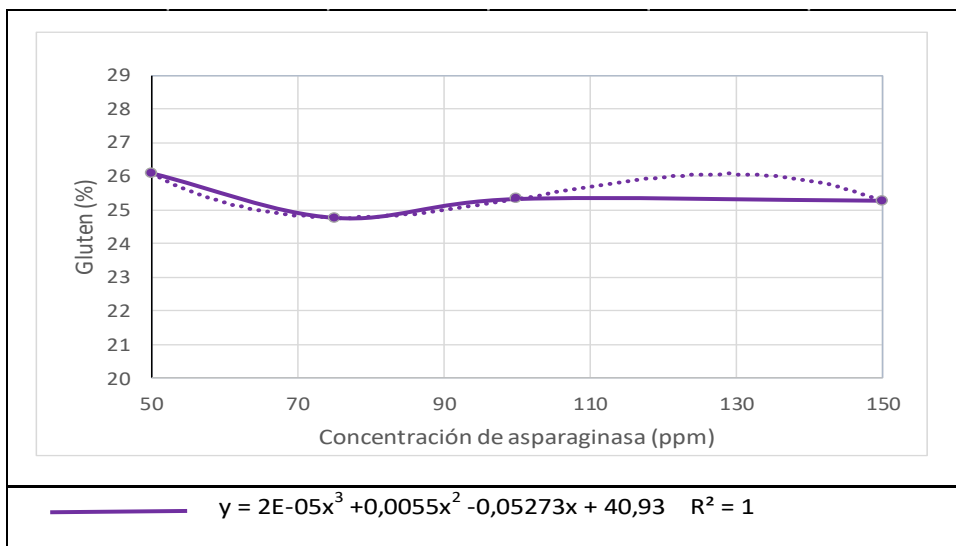
Fuente: elaboración propia.

Figura 18. **Medición de gluten para las muestras con asparaginasa de harina tipo dura**



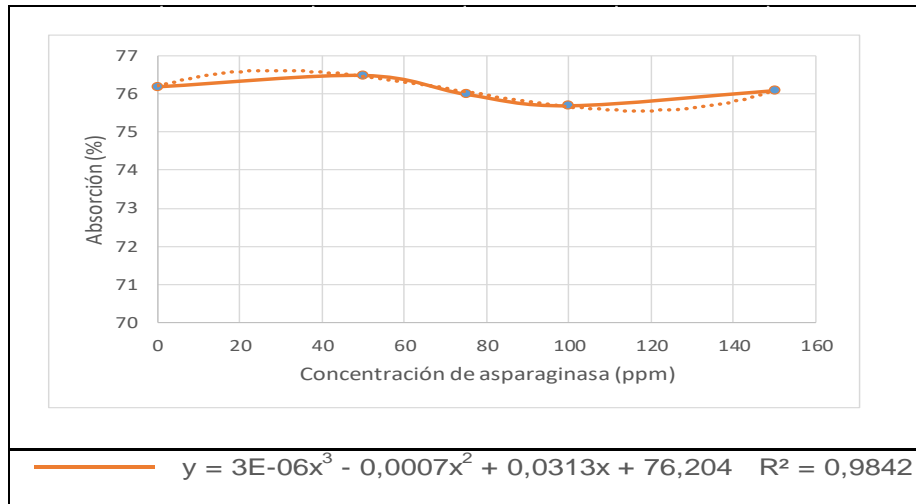
Fuente: elaboración propia.

Figura 19. **Medición de gluten para las muestras con asparaginasa de harina tipo suave**



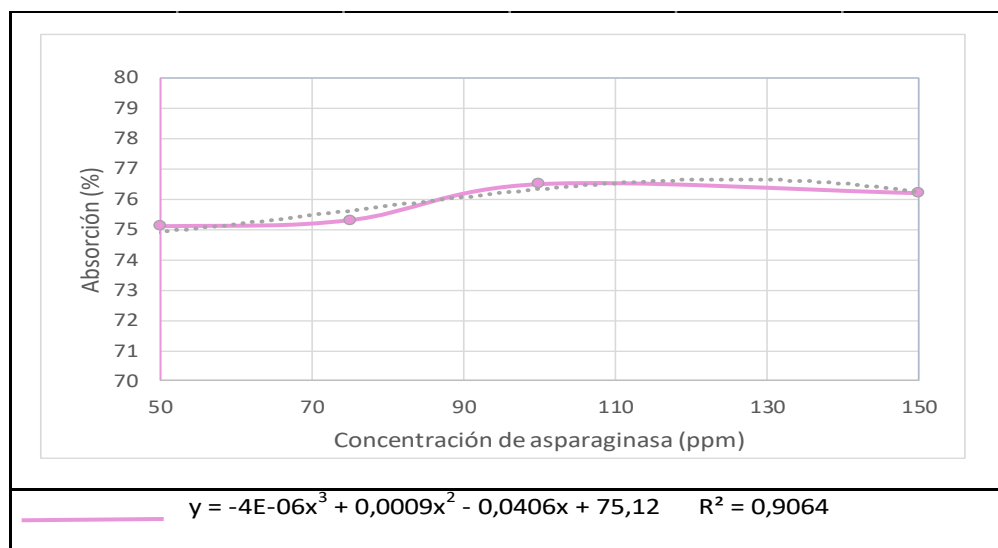
Fuente: elaboración propia.

Figura 20. **Medición de absorción para las muestras con asparaginasa de harina tipo dura**



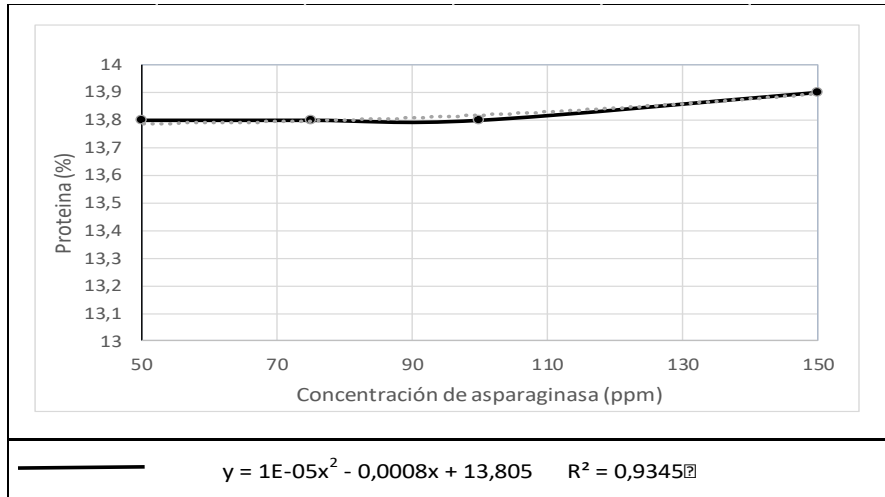
Fuente: elaboración propia.

Figura 21. **Medición de absorción para las muestras con asparaginasa de harina tipo suave**



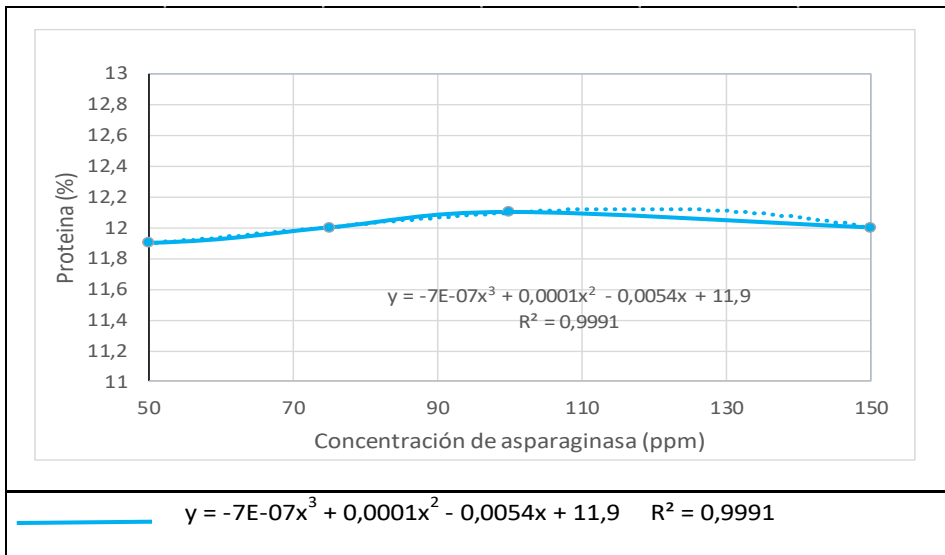
Fuente: elaboración propia.

Figura 22. **Medición de proteína para las muestras con asparaginasa de harina tipo dura**



Fuente: elaboración propia.

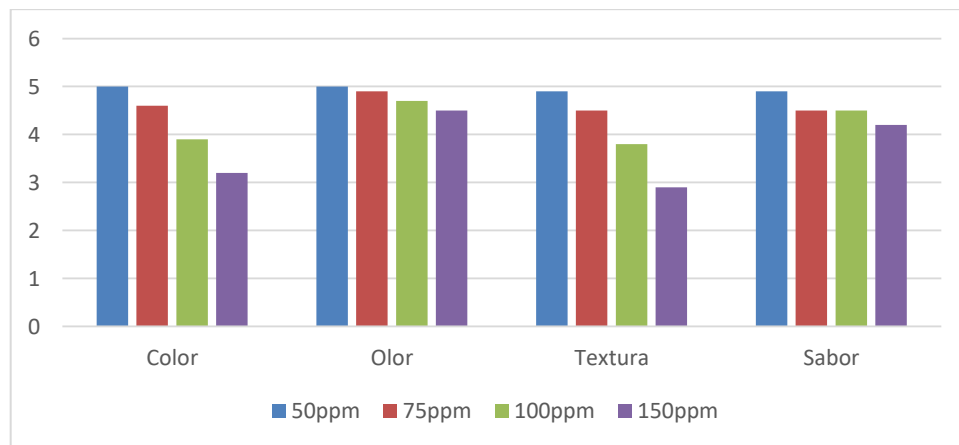
Figura 23. **Medición de proteína para las muestras con asparaginasa de harina tipo suave**



Fuente: elaboración propia.

4.4. Panel sensorial

Figura 24. **Histograma representativo de resultados del panel sensorial para pan francés**



Fuente: elaboración propia.

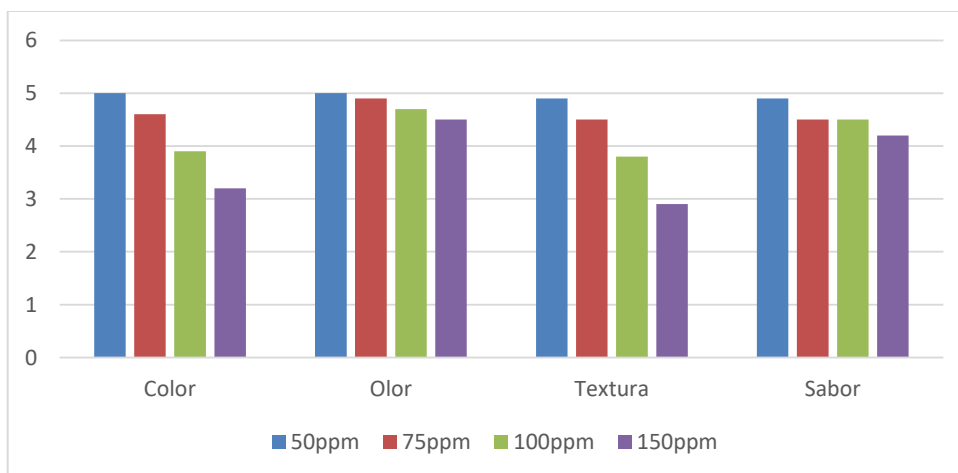
Tabla IX. **Resultados promedio del panel sensorial para pan francés**

PROMEDIO					
Muestra a evaluar	50ppm	75ppm	100ppm	150ppm	
Aspecto a evaluar	Calificación				
Color	5	4,6	3,9	3,2	4,2 ± 0,79
Olor	5	4,9	4,7	4,5	4,8 ± 0,22
Textura	4,9	4,5	3,8	2,9	4,0 ± 0,88
Sabor	4,9	4,5	4,5	4,2	4,5 ± 0,29

Descripción: Calificación de 1 a 5, siendo 5 máximo con respecto al patrón.

Fuente: elaboración propia.

Figura 25. **Histograma representativo de resultados del panel sensorial para pan dulce tostado**



Fuente: elaboración propia.

Tabla X. **Resultados promedio del panel sensorial para pan dulce tostado**

PROMEDIO					
Muestra a evaluar	50ppm	75ppm	100ppm	150ppm	
Aspecto a evaluar	Calificación				PROMEDIO
Color	5	4,7	4	3,9	4,4
Olor	5	4,9	4,7	4,5	4,8
Textura	4,9	4,6	4,2	4	4,4
Sabor	4,9	4,5	4,5	4,2	4,5

Descripción: Calificación de 1 a 5, siendo 5 máximo con respecto al patrón.

Fuente: elaboración propia.

5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La presente investigación tuvo como objetivo la evaluación de la concentración de acrilamida que se tiene en un producto de consumo diario en Guatemala, como lo es el tradicional pan francés y pan dulce tostado. Así mismo, al verificar que los niveles están arriba de lo recomendado por normas internacionales vigentes, se añadió asparaginasa para poder reducir la cantidad de acrilamida. La asparaginasa se debe agregar en una cantidad óptima para no alterar las propiedades reológicas de la masa, propiedades nutricionales y proteicas del pan y la calidad sensorial del producto final. Por lo mismo se realizó un panel sensorial y se evaluaron las principales propiedades reológicas de la masa, así como las propiedades sensoriales y proteicas del producto final.

La síntesis de acrilamida en productos panificables es un proceso que se puede controlar desde la materia prima (harina), ya que en esta es donde se presenta la asparagina, la cual es la precursora de la misma. Sin embargo, durante la producción de pan intervienen diversos factores que pueden afectar la cantidad de acrilamida sintetizada. Para tener una serie de muestras comparables se debieron preparar las muestras en igualdad de condiciones desde un principio, para no alterar de ninguna manera el proceso de síntesis.

Durante el proceso de elaboración del pan se tomaron en consideración diversos factores que debieron ser igualitarios para todas las muestras:

- Se utilizó la misma materia prima. Tanto para la preparación de pan francés como del pan dulce tostado, se utilizó harina proveniente de un

mismo lote para no alterar ninguna de las propiedades y mantener igual la cantidad de asparagina inicial.

- La cantidad de azúcar. Para cada muestra preparada se pesó una misma cantidad según la receta artesanal utilizada en la mayoría de panaderías del país. Esto debido a que también es uno de los reactivos principales en la síntesis de acrilamida junto con la asparagina. Controlar la cantidad de azúcar agregada iguala las condiciones iniciales para la preparación de cada muestra.
- La temperatura de horneado. Se utilizó un horno de convección para el horneado del pan. Por el estado del horno, la geometría del horno y la distribución del calor en el mismo, no se tiene una temperatura de horneado uniforme durante el proceso. Además, por tratarse de un proceso artesanal, se debió abrir el horno en algunas ocasiones para verificar el estado del producto final, por lo que las muestras más cercanas a la puerta del horno sufrieron un choque térmico mayor a las confinadas en el fondo del mismo.
- El tiempo de horneado. Este juega un papel crucial en cualquier reacción química. Al mantener cada muestra el mismo tiempo en el horno no se da lugar ni a una mayor ni a una menor síntesis de acrilamida en el producto final.
- El peso de muestra preparado para medición. Se pesó exactamente la misma cantidad de muestra para la medición de concentraciones de acrilamida para, de esta manera, no variar la cantidad de acrilamida agregada.

Todos estos factores fueron cuidadosamente controlados y medidos para tener un parámetro de comparación lo más idéntico posible.

5.1. Estándar de acrilamida y metacrilamida

Se utilizó estándar de acrilamida para poder calibrar las mediciones del HPLC. A partir de soluciones de concentración de acrilamida conocida se identificó el tiempo de retención de la acrilamida, así como el pico característico. Se configuró a partir de estos datos el software EZ Chrom® para identificar y medir la acrilamida directamente.

A cada muestra de estándar se añadió una concentración conocida de metacrilamida, la cual jugará el papel de estándar interno. Es un estándar de concentración constante e invariable en cada una de las muestras. De la misma forma se programó al software del HPLC para detectar dicho compuesto. La adición de un estándar interno reduce el error en la medición, ya que al ser un valor constante y conocido, se puede saber que, si se tiene una pérdida del mismo, se tiene también una pérdida de acrilamida en igual cantidad. Estas pérdidas son debido al manejo y traslado en cada uno de los procesos.

5.2. Medición de acrilamida en el pan patrón

Al inicio de la experimentación se midió la cantidad de acrilamida en una muestra de pan francés y pan dulce tostado sin adición de asparaginasa, para poder cuantificar la concentración de acrilamida que uno de estos productos tiene en el mercado. Se detectaron concentraciones promedio de acrilamida de 395,74µg/kg y 359,96µg/kg para el pan francés y pan dulce tostado, respectivamente. Según las recomendaciones de normas internacionales se debería encontrar entre 80 y 150µg/kg, por lo que en Guatemala se excede en

un 163,82 % y un 139,97 % el máximo recomendado para el pan francés y pan dulce, respectivamente.

5.3. Lectura e interpretación numérica del cromatograma

El HPLC con el programa EZ Chrom® devuelven lecturas numéricas del cromatograma en dos aspectos: área debajo del pico y altura del pico. En el caso de las lecturas en las muestras de productos panificables se debe tomar en cuenta que existen diversas proteínas y sustratos que se aprecian en el cromatograma. Se puede apreciar en el cromatograma (anexo) que algunos sustratos presentan un tiempo de retención similar al de la acrilamida. Esto genera que, en la lectura del área debajo del pico, se den distorsiones en los límites del mismo y se produzca una variación entre muestras. Por esto último se decidió tomar las lecturas numéricas de las alturas de los picos respectivos de acrilamida y metacrilamida. Este conjunto de datos devuelven, para los estándares, un buen ajuste lineal.

5.4. Disminución de la concentración de acrilamida por medio de asparaginasa

La asparagina es una enzima que permite la hidrólisis de la asparagina en ácido aspártico y amonio, sustancias que son inofensivas al consumo humano en la escala producida. El que se lleve a cabo la reacción de hidrólisis de la asparagina reduce el principal reactivo en la reacción de Maillard. De esta manera se mitiga la síntesis de acrilamida durante el proceso de producción del pan.

Se agregó primeramente una cantidad equivalente a 50ppm de asparaginasa en la harina a utilizar en la mezcla formulada. Al realizar la

medición, esta devolvió un 9,6 % y un 14,37 % de reducción con respecto a la cantidad inicial para el pan francés y pan dulce, respectivamente. Es decir que la asparaginasa sí tuvo un efecto en la producción de acrilamida. Con esta disminución la concentración de acrilamida en el pan francés disminuyó a 357,686µg/kg y a 287,793µg/kg para el pan dulce tostado. Estos niveles no llegan a lo recomendado por normas internacionales.

Debido a que la asparaginasa agregada no fue suficiente para disminuir la cantidad de acrilamida, se agregó una cantidad de 75ppm con respecto a la harina. Al realizar las mediciones se obtuvo que se redujo en un 12,92 % la concentración de acrilamida en el pan francés, un 3,10 % más que en la muestra anterior (50ppm de asparaginasa). Se refleja el efecto mayor de la asparaginasa mientras mayor cantidad se agrega a la muestra formulada. La disminución para el pan dulce correspondió a un 20,05 % con respecto a la cantidad inicial, 5,68 % más que con 50ppm de asparaginasa. Sin embargo, ninguno de estos valores logra llegar a los niveles recomendados.

Se realizó otro intento añadiendo 100ppm de asparaginasa. Las mediciones devolvieron una disminución de 16,01 % para el pan francés, 3,1 % más que para la muestra anterior. Se puede observar que la variación entre la muestra con 75ppm y con 100ppm se redujo con respecto a la variación entre la de 50ppm y la de 75ppm. Es decir, al agregar mayor cantidad de asparaginasa, la cantidad de acrilamida disminuyó pero en menor cantidad. Con respecto al pan dulce, se obtuvo un 23,73 % de reducción con respecto al valor inicial, siendo este valor 3,68 % más que el valor anterior.

Por último, se realizó la adición de 150ppm de asparaginasa en la mezcla formulada. Esto resultó en un porcentaje de reducción de 26,16 % para el pan

dulce y 18,62 % para el pan francés con respecto a la cantidad inicial, disminuyendo así 2,61 % más para el pan francés y 2,42 % para el pan dulce.

En este último punto, la variación que existe entre el dato anterior (100ppm) y 150ppm se reduce a un porcentaje menor que el 3 %. Conforme la cantidad de asparaginasa aumenta, el porcentaje de reducción de acrilamida con respecto a la muestra inicial es mayor, sin embargo, el porcentaje de variación entre una prueba y otra va decreciendo. Esto demuestra que el agregarle más asparaginasa va teniendo un efecto menor. A pesar de representar una cantidad mayor a la anterior, la eficacia del exceso con respecto a la muestra previa es cada vez menor, por lo que se considera llegar hasta 150ppm en la experimentación. Al tratarse de una enzima, el exceso de la misma no afecta la reacción en aspecto alguno, pero afecta la economía del proceso.

5.5. Propiedades reológicas de la mezcla formulada

Primeramente se realizaron pruebas de *falling number*. Dicha prueba está basada en la gelatinización de la amilopectina contenida en la harina en agua caliente por agitación. Durante la prueba se produce la degradación del almidón por la acción de la alfa amilasa, lo cual produce la caída del vástago dentro del tubo. Esta caída tiene lugar cuando la viscosidad disminuye por la rotura de los gránulos de almidón formados por la absorción de agua y el intercambio de calor. El *falling number* se debe mantener en un rango entre 340s a 360s para harina dura, y de 320s a 345s para harina suave, esto para demostrar una actividad amilasica normal. Se obtuvo un promedio de 350s para harina dura (pan francés) y 336s para harina suave (pan dulce tostado). La desviación estándar de cada corrida de datos fue de 5,19 y 6,55, por lo que los datos

presentaron precisión. Además, al realizarse la prueba de varianza, esta aceptó la hipótesis nula, es decir que los datos no variaron significativamente con respecto a la concentración de asparaginasa agregada a la mezcla formulada.

Se prosiguió midiendo la absorción de la harina. La absorción es el valor que refleja la cantidad de agua que es capaz de absorber la harina para la formación estable de la masa, y esto predice su comportamiento previo a la panificación. Los valores de esta propiedad no presentaron varianza significativa para pan francés o pan dulce. Se procedió a comprobar la lectura obtenida por medio de un farinograma, este permite determinar el rendimiento probable de una harina al ser preparada para panificación, por medio de la absorción de agua, el acondicionamiento de la masa y la resistencia que presentará durante la fermentación. Debido a que la prueba conlleva un tiempo y costo significativo, únicamente se realizaron las pruebas en las muestras de 50 y 150 ppm, las cuales no presentaron ninguna variación significativa. En la curva del farinograma no existió variación en la absorción medida, o en el tiempo de llegada, salida o desarrollo.

Así mismo, se realizó un alveograma para medir las propiedades de tenacidad, elasticidad, extensibilidad y fuerza panadera de la harina. Los alveogramas realizados no presentaron ninguna variación en sus parámetros, por lo que la adición de asparaginasa a la harina no afecta en las propiedades de tenacidad, elasticidad, extensibilidad y fuerza panadera de la harina. Al analizar e interpretar cada una de las pruebas realizadas y sus resultados se comprueba que la cantidad de asparaginasa no altera las propiedades reológicas de la harina, ya que estas no presentaron variación significativa en sus valores.

5.6. Propiedades proteicas del pan con asparaginasa

Se realizaron mediciones del porcentaje de proteína de las diferentes muestras de harina para comprobar si la adición de asparaginasa tiene un efecto sobre el porcentaje de la proteína de la harina. Como se puede observar en las figuras 20 y 21 (sección de resultados) no existe ningún cambio significativo en los porcentajes de proteína de la harina. La adición de la enzima asparaginasa no tiene ningún efecto sobre la proteína y, por ende, sobre la fuerza de la harina.

5.7. Panel sensorial

Debido a que la acrilamida tiene una influencia directa en la formación de la corteza del pan y de sus propiedades organolépticas (color, textura, entre otros), se estima que la baja producción de acrilamida en el pan deriva en una falta de color y textura. Por esto último se realizó un panel sensorial con personas al azar, para poder comprobar si la calidad del pan varía para el público en general. Las evaluaciones fueron comparativas con respecto a una muestra preparada sin adición de asparaginasa.

Según el público encuestado, la variación de la propiedad del sabor no tuvo movimiento significativo, ya que obtuvo un promedio de calificación de 4,5. Así mismo, el olor no varió, y tuvo una calificación promedio general de 4,8. La ligera variación del sabor se atribuyó a un cambio de sabor a quemado/tostado en el pan. La no variabilidad en el olor se debe a que la asparaginasa es inodora y no afecta en ningún aspecto el olor característico del pan.

La propiedad de color presentó una variabilidad significativa, teniendo un promedio de calificación de 5 para la muestra de 50ppm, mientras que la

muestra de 150ppm tuvo un promedio de calificación de 3,2, debido a una disminución notable de color para dicha muestra. Como se mencionó anteriormente, el color del pan está directamente relacionado con la acrilamida, la cual le da el tono tostado característico. En las muestras con 150 ppm de asparaginasa agregada se notó un pan descolorido a lo acostumbrado. Sin embargo, la decoloración no topó los extremos para obtener las calificaciones más bajas (1 o 2), sino obtuvo una calificación por encima de la media. Se considera que tuvo una variación pero no significativa como para descartar la calidad del pan francés. De la misma manera, la propiedad de textura tuvo una variación de 4,9 a 2,9, debido a la asparaginasa y, por la falta de acrilamida, la corteza firme y tostada del pan se vio menguada. Sin embargo, al mantenerse en la media de calificación, no se considera que haya alterado significativamente la calidad del pan.

Para el pan dulce tostado la variabilidad de calidad fue menor que con el pan francés. En el aspecto del color se tuvo un promedio general de 4,4, lo cual está por encima de la media, al igual que el olor, textura y sabor, con una media de calificación general de 4,8, 4,4 y 4,5, respectivamente. Estas evaluaciones demuestran que la adición de asparaginasa no altera las propiedades organolépticas del pan significativamente.

CONCLUSIONES

1. Se determinó que, en el pan francés elaborado según la receta y proceso de tradición guatemalteca, se obtuvo una concentración promedio de 395,714 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de acrilamida.
2. Se determinó que, en el pan dulce tostado elaborado según la receta y proceso de tradición guatemalteca, se obtuvo una concentración promedio de 356,963 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de acrilamida.
3. Al incrementar las dosis de asparaginasa en la mezcla formulada se obtuvo una reducción en la concentración de acrilamida en el pan francés, con una tendencia de inclinación de un 0,5 %, logrando una disminución máxima del 18,62 % respecto a la concentración inicial, al agregar 150ppm de asparaginasa.
4. Al incrementar las dosis de asparaginasa en la mezcla formulada se obtuvo una reducción en la concentración de acrilamida en el pan dulce tostado, con una tendencia de inclinación de un 0,6 %, logrando una disminución máxima del 26,16 % respecto a la concentración inicial, al agregar 150ppm de asparaginasa.
5. No se observaron cambios significativos en las propiedades reológicas de las masas preparadas con adición de asparaginasa, para ambas formulaciones de pan francés y pan dulce tostado.

6. No se observaron cambios significativos en las propiedades organolépticas de los productos obtenidos de mezclas formuladas con adición de asparaginasa.

RECOMENDACIONES

1. Ampliar el estudio a diferentes mezclas especiales de harinas, tales como la integral o la harina clorinada.
2. Determinar la relación que puede existir entre la cantidad de acrilamida sintetizada durante la panificación y la adición de ingredientes mejoradores y leudantes.
3. Experimentar con variaciones de la composición del flujo de la fase móvil, para obtener un tiempo de retención menor y así optimizar el tiempo de la experimentación.
4. Extender el estudio a la influencia de factores agronómicos de la producción de trigo con la síntesis de acrilamida en la panificación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Consultores Cerealistas (CONCEREAL). *Alveógrafo*. [en línea]. <<http://www.concereal.es/alveografo>>. [Consulta: enero de 2017.]
2. ENRÍQUEZ-FERNÁNDEZ, et al. *Acrilamida en alimentos: sus causas y consecuencias*. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Fundación Universidad de las Américas, Puebla, México, 2010,13.p.
3. FLORES CALDERÓN, Corina Andrea. *Estudio de dieta total: estimación de la ingesta de acrilamida en la población valdiviana*. Trabajo de graduación de Licenciatura en Ciencias de los Alimentos. Escuela de Ingeniería en Alimentos, Universidad Austral de Chile, 2008. 91.p.
4. GUIBERT READ, Joaquín. *Acrilamida*. Trabajo presentado durante el Curso de Toxicología y Química Forense. Universidad de Belgrano, Argentina, 2011. 7.p.
5. HERNÁNDEZ ALARCÓN, Elizabeth. *Evaluación sensorial. Curso de tecnología de cereales y oleaginosas*. Facultad de Ciencias Básicas e Ingeniería. Universidad Abierta y a Distancia (UNAD), Bogotá, Colombia, 2005. 128.p.
6. HERNÁNDEZ MORENO, Luis Eduardo. *Implementación de una metodología analítica para la cuantificación de acrilamida en*

papas chips por HPLC MS/MS. Trabajo de graduación de Licenciatura en Ciencias Químicas Farmacéuticas. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de Chile, 2007. 91.p.

7. MORENO NAVARRO, Isidoro.; et. al. *La acrilamida, contaminante químico de procesado*. Revista de Toxicología, Vol. 24. 2007. Pamplona, España. 7.p.
8. PLAZA DÍAZ, Carolina Isabel. *Reducción del contenido de acrilamida en pan tipo hallulla mediante la incorporación de asparaginasa*. Trabajo de graduación de Ingeniería en Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de Chile, 2017. 71p.
9. SKERRIT; Andrews. *Cereal laboratory methods*. American Association of Cereal Chemistry. USA: 1983 Edit. AACC St. Paul. 15.p.
10. Swedish National Food Administration (SNFA). *Analytical methodology and survey results for acrylamide in foods*. 2002. 13.p.
11. VALENZUELA B., Rodrigo; et al. *Acrilamida en los alimentos*. Revista Chilena de Nutrición, Vol. 34. 2007. Chile.
12. VARGAS LASSO, John Jairo.; et al. *Determinación de acrilamida en el procesamiento de la panela por cromatografía líquida*. Revista Ciencia en Desarrollo. Vol.5. 2014. Colombia. 150.p.

APÉNDICES

Apéndice 1. Muestra de cálculo

Concentración de acrilamida:

$$[Acrilamida] = \frac{Raltura - b}{a}$$

Donde:

- Raltura : relación de alturas entre la acrilamida y la metacrilamida
- a : pendiente de la línea de tendencia de estándares
- b: ordenado al origen de la línea de tendencia de estándares

Ejemplo: para altura de 2,362:

$$[Acrilamida] = (2,362 - 0,2644)/0,0053 = 395,714$$

1. Promedio

$$\overline{datos} = \frac{\sum datos}{\#datos}$$

Donde:

- Σ datos: sumatoria de los datos a promediar
- #datos: número total de datos

Continuación de apéndice 1.

Ejemplo:

Promedio de datos de relación de alturas/SI de las muestras con 50ppm para pan francés:

$$\overline{[x]} = \frac{(2,124 + 2,142 + 2,176 + 2,199)}{4} = 2,36$$

2. Varianza

$$V = \sum (x_i - \bar{x})^2$$

Donde:

- x_i : Dato x
- \bar{x} : promedio general de datos
- V : varianza

Ejemplo: varianza de datos de las muestras de 50ppm:

$$V = (2,124 - 2,160)^2 + (2,142 - 2,160)^2 + (2,176 - 2,160)^2 + (2,199 - 2,160)^2 \\ = 0,0008517$$

3. Desviación estándar

$$\sigma = \sqrt{V}$$

Donde:

- σ : desviación estándar
- V : varianza

Continuación de apéndice 1.

Ejemplo: desviación estándar de los datos de las muestras de 50ppm

$$\sigma = \sqrt{0,0008517} = 0,0291832$$

4. Porcentaje

$$\%x = \frac{x_i}{x} * 100$$

Donde:

- %x: porcentaje de x con respecto a X
- x_i : dato x
- X: dato X de referencia

Ejemplo: porcentaje de disminución de la acrilamida en la muestra de 50ppm con respecto a la cantidad inicial:

$$\% = \frac{357,686}{395,714} * 100 = 12,92 \%$$

Fuente: Elaboración propia

Apéndice 2. **Datos calculados**

Tabla A1. **Datos de altura del pico característico de la acrilamida calculado por el cromatógrafo en el software EZ Chrom® para los estándares de acrilamida y metacrilamida**

Rep.	200		300		400		500	
	ALTUR A	ALTURA SI	ALTUR A	ALTURA SI	ALTUR A	ALTURA SI	ALTUR A	ALTURA SI
1	54415	41108	75191	41269	97451	41328	118455	41259
2	54168	41226	76956	41670	97826	41373	119620	40802
3	54533	41182	76903	41757	98093	41653	119769	41164
4	53775	41577	77109	41206	98444	42070	119602	41161
5	54438	41420	76649	41677	98942	41683	118630	41676

Fuente: elaboración propia.

Tabla A2. **Relaciones de altura de acrilamida y metacrilamida para estándares**

Rep.	200	300	400	500
	RELACION ALTURA	RELACION ALTURA	RELACION ALTURA	RELACION ALTURA
1	1,324	1,822	2,358	2,871
2	1,314	1,847	2,364	2,932
3	1,324	1,842	2,355	2,910
4	1,293	1,871	2,340	2,906
5	1,314	1,839	2,374	2,846

Fuente: elaboración propia.

Continuación de apéndice 2.

Tabla A3. **Datos de altura del pico característico de la acrilamida calculado por el cromatógrafo en el software EZ Chrom® para las muestras de pan francés.**

0	50	75	100	150
97984	83540	87860	82001	85602
97583	83605	87375	80967	83895
99824	84040	85962	81296	84410
99290	84452	85572	80038	83365

Fuente: elaboración propia.

Tabla A4. **Relación de altura entre concentración de acrilamida y concentración de estándar interno para las muestras de pan francés**

Rep.	0	50	75	100	150
1	2,334	2,124	2,114	1,989	1,989
2	2,318	2,142	2,101	2,104	2,011
3	2,393	2,176	1,947	2,156	1,986
4	2,401	2,199	1,941	2,115	1,898

Fuente: elaboración propia.

Continuación de apéndice 2.

Tabla A5. **Datos de altura del pico característico de la acrilamida calculado por el cromatógrafo en el software EZ Chrom® para las muestras de pan dulce tostado**

0	50	75	100	150
82878	74753	72612	68480	65462
85134	75836	73499	66590	65341
82943	76036	72510	68494	65621
85151	76330	73095	68500	66360

Fuente: elaboración propia.

Tabla A6. **Relación de altura entre concentración de acrilamida y concentración de estándar interno para las muestras de pan dulce tostado**

Rep.	0	50	75	100	150
1	2,114	1,875	1,807	1,743	1,651
2	2,216	1,905	1,836	1,680	1,731
3	2,155	1,899	1,722	1,735	1,647
4	2,204	1,913	1,794	1,720	1,664

Fuente: elaboración propia.

Continuación de apéndice 2.

Tabla A7. **Promedio de relación de alturas con estándar interno para pan francés**

ppm	Altura acr/SI
0	2,362
50	2,160
75	2,091
100	2,026
150	1,971

Fuente: elaboración propia.

Tabla A8. **Promedio de relación de alturas con estándar interno para pan dulce tostado**

ppm	Altura acr/SI
0	2,172
50	1,898
75	1,790
100	1,719
150	1,673

Fuente: elaboración propia.

Tabla A9. **Mediciones de *falling number* para harina tipo suave y tipo dura**

ppm	Harina Dura(s)	Harina Suave(s)
50	351	339
75	354	338
100	354	340
150	343	336

Fuente: elaboración propia.

Continuación de apéndice 2.

Tabla A10. **Mediciones de gluten para harina tipo suave y tipo dura**

ppm	Harina Dura	Harina Suave
50	2911	2608
75	2901	2478
100	2893	2533
150	2901	2528

Fuente: elaboración propia.

Tabla A11. **Mediciones de porcentaje de proteína para harina tipo suave y dura**

ppm	Harina suave (%)	Harina dura (%)
0	11,9	13,8
50	11,9	13,8
75	12	13,8
100	12,1	13,8
150	12	13,9

Fuente: elaboración propia.

Tabla A12. **Mediciones de porcentaje de absorción para harina tipo suave y tipo dura**

ppm	Harina suave (%)	Harina dura (%)
0	75,1	76,2
50	75,1	76,5
75	75,3	76
100	76,5	75,7
150	76,2	76,1

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 3. **Requisitos académicos y diagrama de Ishikawa**

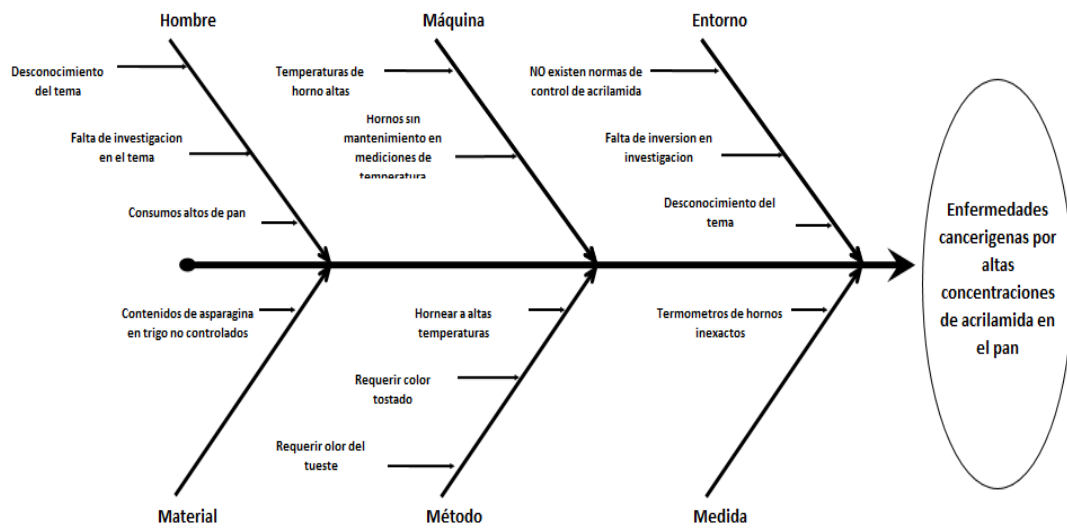
Tabla A13. **Requisitos académicos**

Carrera	Área	Curso	Tema específico
Ingeniería Química	Química	Análisis Instrumental	Métodos Instrumentales
		Química Orgánica	Nomenclatura y propiedades de compuestos químicos
		Microbiología	Enzimas
	Área Complementaria	Procesos químicos industriales	Procesos de producción de alimentos
	Ciencias Básicas y Complementarias.	Estadística 2	Análisis Estadístico
	Área de especialización	Tecnología de los alimentos	Cereales

Fuente: elaboración propia, según pensum vigente de Ingeniería Química, Universidad de San Carlos, 2016.

Continuación apéndice 3.

Figura A1. Diagrama de Ishikawa

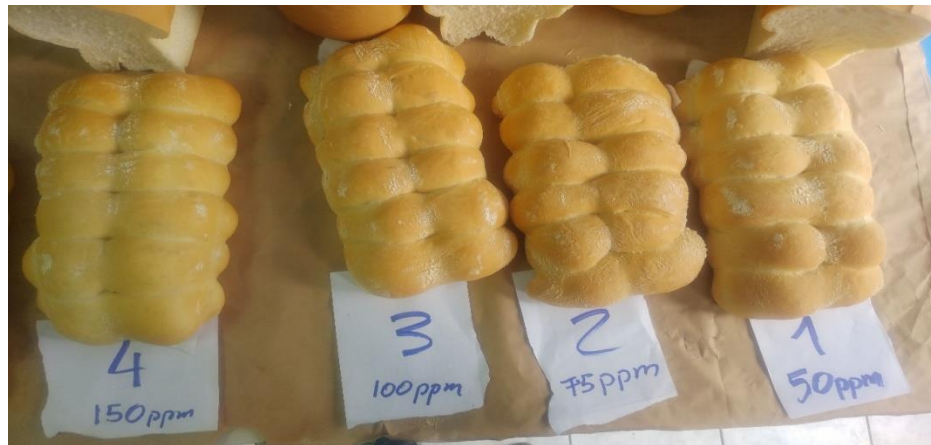


Fuente: elaboración propia.

ANEXOS

Anexo 1. Muestras de pan

Figura A2. Fotografía de muestras de pan francés con adición de asparaginasa



Fuente: Laboratorio de Control de Calidad, 2017. Facultad de Ingeniería

Continuación de anexo 1.

Figura A3. Fotografía de muestras de pan dulce tostado con adición de asparaginasa



Fuente: Laboratorio de Control de Calidad, 2017. Facultad de Ingeniería

Anexo 2. **Medición de acrilamida en el pan**

Figura A4. HPLC ELITE LaChrom



Fuente: Laboratorio de Toxicología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC

Continuación de anexo 2.

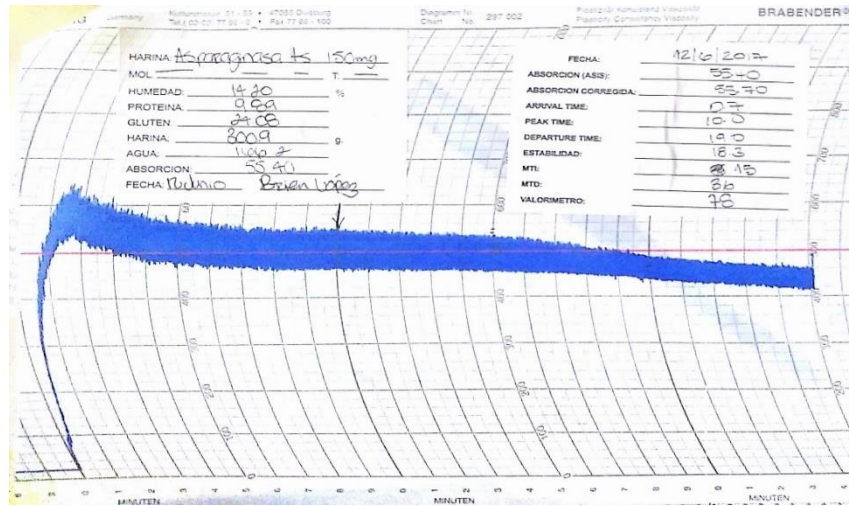
Figura A5. Muestras pulverizadas de pan dulce tostado y pan francés



Fuente: Laboratorio de Toxicología, USAC, 2017. Guatemala.

Anexo 3. Medición de las propiedades reológicas del pan

Figura A6. Ejemplo de Farinograma

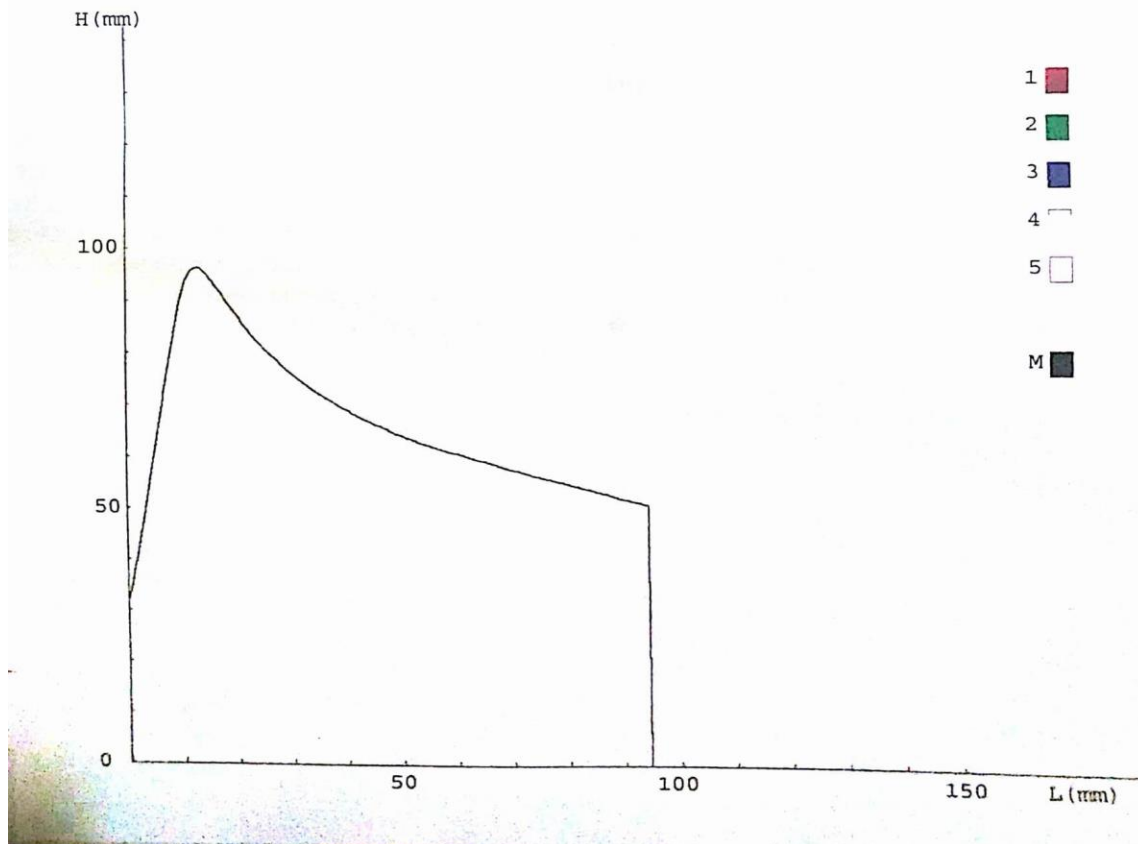


Fuente: Laboratorio de Control de Calidad, 2017. Facultad de Ingeniería

Continuación de anexo 3.

Figura A7. Ejemplo de alveograma

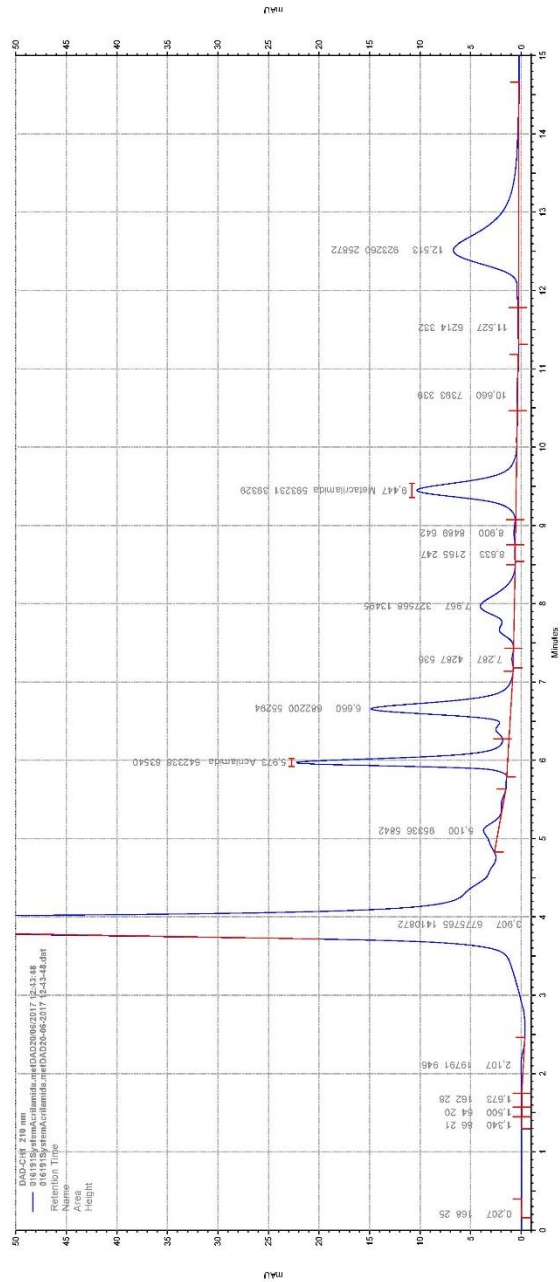
FECHA: 16/06/2017		REFERENCIA MUESTRA : SDD 450MG
HORA: 13:46		NOMBRE DE FICHERO : 06160005A117
PARAMETROS		RESULTADOS
TEMP.LABO: 21.2 °C	HIGRO.LABO.: 39.0 %	P = 106 mmH2O
HARINA : DURA MUESTRA	MOLINO :MOLSA GT	L = 94 mm
HUMEDAD : 14.10 %		G = 21.6
PROTEINAS: 11.70 %	I.CAIDA :	W = 407 10E-4J
A.D. :	ABSORCION:	P/L = 1.13
ZELENY :		Ie = 71.5 %
CENIZAS : 0.49 %	EXTRAC. :	W(0) = 0 10E-4J
GLUTEN : 27 52		
COMENTARIOS		
O50617		
NELSON MARTINEZ		v:d2.8A +5.9



Fuente: Laboratorio de Control de Calidad, 2017. Facultad de Ingeniería

Continuación de anexo 3.

Figura A8. Ejemplo de cromatograma



Fuente: Laboratorio de Toxicología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

