

Influencia del α -amilasa sobre las características texturales del pan de agua producto autóctono de Pamplona (N. de S.)

Influence of α -amylase on the textural characteristics of the pan de agua as an indigenous product of Pamplona (N. of S.)

Hernández O. Mariela*

Facultad de Ingenierías y Arquitectura, programa de Ingeniería de Alimentos, Grupo de investigación Ingeniería y Tecnología de Alimentos (GINTAL), Universidad de Pamplona, Km 1 Vía Bucaramanga, Pamplona, Colombia.

Recibido 22 de Diciembre 2013; aceptado 09 de Marzo de 2014

RESUMEN

En el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la influencia de la enzima α -amilasa sobre las características texturales del pan de agua, esta enzima minimiza la alteración de las propiedades texturales del producto típico y con mayor vida útil. Para ello, inicialmente la técnica de análisis de perfil de textura (TPA) fueron puestas a punto en el texturoméetro (Textura Analyser, TA.Plus, Lloyd Instruments a Trademark of Meter) tomando como referencia el pan de agua producido en la panadería de mayor experiencia en la producción de este tipo de pan y facilitó su infraestructura para el desarrollo del trabajo. Posteriormente se elaboró el pan de agua utilizando concentraciones de α -amilasa de 0, 450, 750 y 900 MANU/kg de harina. El pan de agua fue empacado en bolsa de polietileno de baja densidad y almacenado durante 20 días en condiciones ambientales (20 ± 2 °C y 75% HR). Durante este tiempo se analizaron todos los días las propiedades texturales. Se pudo establecer que la α -amilasa retarda el endurecimiento de la miga del pan de agua y que las concentraciones de 450 y 750 MANU/kg de harina son las que mejor preservan las características texturales iniciales del pan de agua durante los 20 días de almacenamiento. Asimismo, la concentración de α -amilasa que conserva las propiedades texturales iniciales del producto fue la de 450 MANU/kg de harina, durante un periodo de 12 días, lográndose extender la vida útil del pan de agua de 4 a 12 días, en las condiciones de almacenamiento indicadas anteriormente.

*Autor a quien debe dirigirse la correspondencia. E-mail: mherandez@unipamplona.edu.co

Palabras clave: α -amilasa, endurecimiento, pan de agua, perfil de textura

ABSTRACT

The present work aimed to evaluate the influence of α -amylase enzyme on the textural characteristics of the pan de agua, this enzyme minimizes the disruption of the textural properties of the typical product and gives it a longer useful life. To do this, first, the analysis technique of the texture profile (TPA) was overhauled in the texturometer (Texture Analyser, TA.Plus, lloyd Instruments to Trademark of Meter) taking by reference the pan de agua produced in the bakery with the most experience in the production of this type of bread and where infrastructure for the development of this work was provided. Subsequently, the pan de agua was prepared using α -amylase concentrations of 0, 450, 750 and 900 MANU / kg flour. The pan de agua was bagged in a low density polyethylene pack and stored for 20 days at environmental conditions (20 ± 2 °C and 75% RH). During this time textural properties were analyzed daily. It was established that the α -amylase retards the hardening of the crumb of the pan de agua and the concentrations of 450 and 750 MANU / kg of flour best preserve the initial textural characteristics of the pan de agua during the 20 days of storage. Also, the concentration of α -amylase which retains the initial textural properties of the product was 450 MANU / kg flour, for a period of 12 days, helping to extend the life of the pan de agua from 4 to 12 days, in the storage conditions listed above.

Keywords: *α -amylase, hardening, pan de agua, texture profile.*

INTRODUCCIÓN

El endurecimiento de la miga del pan agua es debido al conjunto de complejos cambios que tienen lugar después de la cocción y que ocasionan la pérdida de frescura y de la calidad del producto horneado, reduciendo así su aceptación por parte del consumidor. Este rechazo normalmente es debido a todos los cambios físicos que tienen lugar en la corteza y en la miga del pan durante el almacenamiento (Betchtel *et al.*, 1953). Este endurecimiento se refleja organolépticamente por los cambios que se producen en la textura del pan, así como en el sabor y en el aroma. El cambio más importante es el gradual incremento de firmeza que se produce en la miga que está relacionado con los cambios físicos que se producen en la fracción del almidón (Guy *et al.*, 1983). El proceso de endurecimiento de la miga del pan comienzan durante el enfriamiento, incluso antes de que el almidón haya solidificado lo suficiente como para que la pieza de pan se corte. Durante el almacenamiento, la miga generalmente se vuelve más dura, seca y desmenuzable y la corteza se

ablanda y se vuelve correosa. Con mucha frecuencia, estos cambios se atribuyen únicamente a que la miga se seca. Este proceso de endurecimiento está compuesto de dos subprocesos separados (Guy *et al.*, 1983): el efecto del endurecimiento provocado por la transferencia de humedad de la miga hacia la corteza y, el endurecimiento intrínseco del material de las paredes de los alvéolos, que está asociado con la recristalización del almidón durante el almacenamiento. Se han empleado diferentes materias primas con el de retrasar el proceso de endurecimiento de la miga del pan como: emulgentes, polisacáridos, azúcares, ácidos y el uso de enzimas amilolíticas como las amilasas, sistemas enzimáticos más importantes en tecnología de la panificación, de hecho fueron las primeras enzimas añadidas a la masa panaria. Numerosos autores coinciden en las propiedades de las amilasas y su papel en panificación (Kim *et al.*, 2006; Van Dam y Hille, 1992). Estudios como los de Hebeda *et al.*, (1990), Olesen, (1990), Akers

y Hosoney (1994); Qi Si (1997), han demostrado el efecto antiendurecimiento en el pan de una exoenzima bacteriana, de estabilidad térmica intermedia. La adición de α -amilasas a la masa retrasa el endurecimiento de la miga (Miller *et al.*, 1953; Randez *et al.*, 1995; Dunnewind *et al.*, 2002; Fiszman *et al.*, 2005) durante el horneado, las amilasas hidrolizan parcialmente el almidón para dar una mezcla de dextrinas más pequeñas. Las enzimas α -amilasa no pueden acceder a los gránulos de almidón intactos, por lo que básicamente hidrolizan el almidón dañado mediante el ataque de los enlaces α - (1-4) que se encuentran a lo largo de la cadena de las cadenas del almidón.

MATERIALES Y MÉTODOS

Enzima

Microgranulado de color marrón claro, con un tamaño medio de partícula de aproximadamente 350 micrones (amilasa maltogénica purificada, procedente de *Bacillus stearothermophilus*, de marca Novamyl®). Su actividad es 1500 MANU/Kg o sea cantidad de enzima que, bajo condiciones estándar, hidroliza un micromol de maltosa por minuto, Soluble en agua, actúa a pH: 4.5-6.5. La dosificación recomendada de Novamyl® es de 1-10g por 100kg de harina, lo que correspondientes a 100-1000 MANU por kg de harina.

Procedimiento de panificación

Para la elaboración de los panes de agua se utilizó la siguiente formulación: 68,54 % de harina, 25,70% de agua, 1,38 % de levadura, 2,19 % de sal y 2,19 % de azúcar. A partir de esta formulación, se realizaron cuatro producciones variando la concentración de alfa amilasas (0, 450; 750 y 900 MANU/Kg), donde la producción sin la adición de enzima fue la muestra control. Se calcularon los porcentajes de las materias primas utilizadas en base al peso de harina empleada. La enzima se mezcló con la harina antes de proceder a la adición de los demás ingredientes. Una vez mezclados todos los ingredientes, la masa fue convenientemente amasada hasta su completo desarrollo. Posteriormente la masa fue dividida

Esta acción se detiene en los puntos de ramificación α -(1 – 6) de la amilopeptina. La actividad de la α -amilasa es mínima por debajo de 55°C y depende de la cantidad de almidón dañado que exista en la harina. Entre 58 y 78 °C el almidón que está gelatinizando es atacado rápidamente, ralentizándose la velocidad de esta conversión por encima de este rango de temperaturas debido a la desnaturalización de la enzima. De acuerdo a lo anterior, el propósito de esta investigación fue evaluar la influencia de la enzima α -amilasa sobre las características texturales del pan de agua.

manualmente en piezas de 150 – 200 g. Las piezas homogéneas se depositaron en tablas de madera y colocaron en repisas cerca al área de horneado, con el fin lograr la fermentación durante 65±10 minutos, a una temperatura de 25.3± 1.2 °C y una humedad relativa de 67.5 ± 2.5 %. Seguidamente se procedió hacer un horneado durante 20 ± 7 minutos a una temperatura de 287 ± 7.0°C en un horno de piedra. Los panes horneados se dejaron enfriar en canastas plásticas a temperatura ambiente durante 2 horas. Finalmente los panes fueron empacados en bolsas de polietileno de baja densidad (seis unidades) y almacenados en el laboratorio (temperatura de 20±2°C y humedad relativa de 75%).

Características texturales

Preparación de las muestras de pan

Para evaluar el perfil de textura (TPA) se cortaron cubos de miga de pan de la parte central de aproximadamente 4±0.5 cm de ancho, de largo 3±0.5cm y 2±0.5 cm de altura.

Determinación del análisis de perfil de textura (TPA)

Para el ajuste de los parámetros de análisis del perfil de textura se tuvo en cuenta varias investigaciones sobre el análisis del perfil de textura realizado a diferentes tipos de pan. A partir de estas investigaciones se variaron los valores de

cada parámetro, tales como velocidad de desplazamiento del cabezal, fuerza trigger y porcentaje de compresión (AACC, 1995b) utilizando un texturometro (Textura Analyser, TA.Plus, Lloyd Instruments a Trademark of Meter). Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente con el fin de establecer los parámetros para la evaluación del TPA. Los parámetros establecidos fueron los siguientes: velocidad del cabezal 150 mm/min, fuerza trigger 100gf y el porcentaje de compresión fue de 50%. Una vez establecidos los parámetros para la evaluación del perfil de textura

se realizó el análisis respectivo de las muestras de pan de agua elaborado con y sin alfa amilasa.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de las propiedades texturales del pan de agua elaborado con diferentes concentraciones de alfa amilasa, se utilizando la técnica de análisis de la varianza (ANOVA) a un nivel de confianza del 5%, realizando comparación de medias mediante el Test de Fisher (LSD, least significant differences) y análisis de clúster.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características texturales del pan elaborado con las diferentes concentraciones de enzima

Dureza

El comportamiento de la dureza 1 y 2 de la miga del pan de agua con y sin alfa amilasa, durante los 20 días de almacenamiento, se observan en las figuras 1 y 2, presentándose variabilidad de esta propiedad textural en estos días.

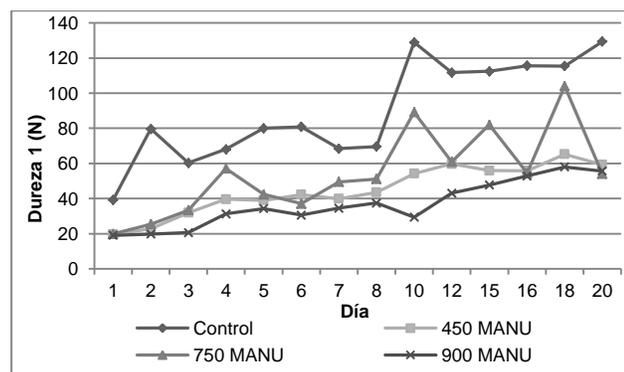


Figura 1. Dureza 1 de la miga del pan de agua con y sin alfa amilasa

Se puede observar que la dureza tiene un comportamiento ascendente a través de los días para todas las muestras, siendo más acentuada la dureza del pan control. La dureza se ve afectada en sus valores de mayor a menor según la aplicación de enzima por las concentraciones 750, 450 y 900 MANU/kg respectivamente, esto indica que la alfa

amilasa actuó sobre el sustrato evitando el endurecimiento de la miga.

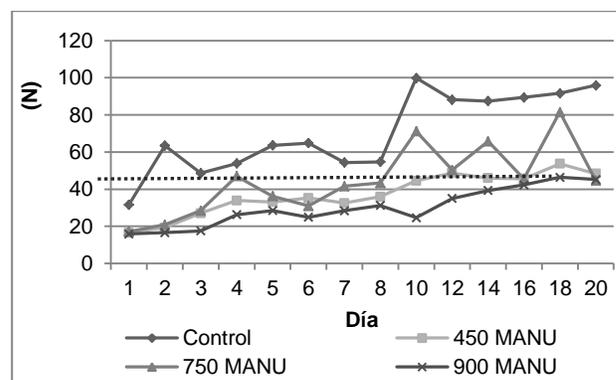


Figura 2. Dureza 2 de la miga del pan de agua con y sin alfa amilasa

Al realizar el análisis de varianza de las durezas (1 y 2), de la miga del pan elaborado con y sin alfa amilasa, almacenados durante 20 días, se obtiene como resultado que existe diferencia estadísticamente significativa de esta propiedad entre las cuatro muestras a un nivel de significancia del 5%. Se conforman tres grupos homogéneos de medias, los cuales son: grupo 1 (pan de agua con 450 y 900 MANU/kg), grupo 2 (pan de agua con 750 MANU/kg) y grupo 3 (pan control). En el grupo 3 se presenta mayor dureza 1 y 2, debido a que es la muestra control (sin enzima), presentando

endurecimiento de la miga por la gelificación del almidón.

Cohesividad

En la figura 3 se observa el comportamiento de la cohesividad de la miga del pan de agua durante los 20 días de almacenamiento, tanto para el pan control (sin enzima), como para los panes de agua con las tres concentraciones de enzima empleadas. Se observa, que los valores varían a través de los días con un comportamiento descendente. Las migas de los panes control presentan menor cohesividad, comparado, con las tres concentraciones de enzima. La cohesividad de los panes tratados con las tres concentraciones de enzima, en el día 20, es similar al valor inicial de la cohesividad presentado por el pan control.

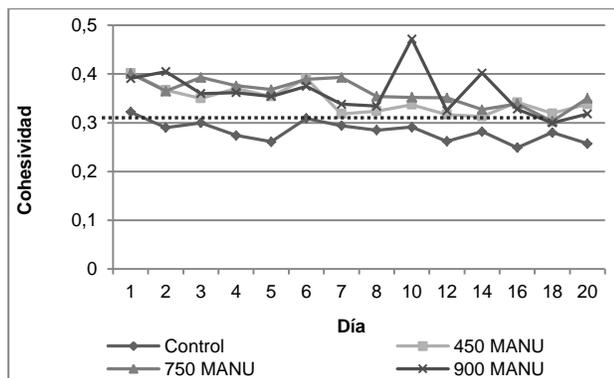


Figura 3. Cohesividad de la miga del pan de agua con y sin alfa amilasa.

Del análisis ANOVA se obtiene que existe diferencia estadísticamente significativa (5%), entre la cohesividad de la miga de pan de las muestras elaboradas con y sin enzima. Al realizar la prueba de LSD se conforman dos grupos homogéneos: grupo 1 (pan control) y grupo dos (pan de agua con 450, 750 y 900 MANU/kg), donde la muestra control es menos cohesiva en relación con las muestras de pan elaboradas con las tres concentraciones de enzima.

Elasticidad

El comportamiento de valores de la elasticidad de la miga del pan de agua con y sin alfa amilasa durante los 20 días de almacenamiento no es constante, es muy variable para cada concentración de la enzima, como se observa en la figura 4. También se puede

observar en el mismo, que la elasticidad de la miga para cada concentración de enzima se presenta similaridad en los días 1, 2, 3, 4, 10; caso contrario se presenta en los días 6, 7, 8, 12, 14, 18 y 20, donde los valores de la elasticidad de las cuatro muestras es diferente. Al analizar el comportamiento de elasticidad de cada una de las muestras se observa que las migas de las muestras de pan de agua con 450 MANU/kg y el control son las que presentan mayor elasticidad comparándola con las otras muestras. De acuerdo a la concentración de enzima, la elasticidad se ve afectada, a medida que aumenta la concentración de enzima también lo hace el valor de la elasticidad, indicando que la alfa amilasa actuó sobre el almidón evitando la gelificación del mismo. La miga de pan con 900 MANU/kg es la que presentan los valores menores de elasticidad y son los que más se asemeja al valor de la elasticidad inicial presentado por el pan control.

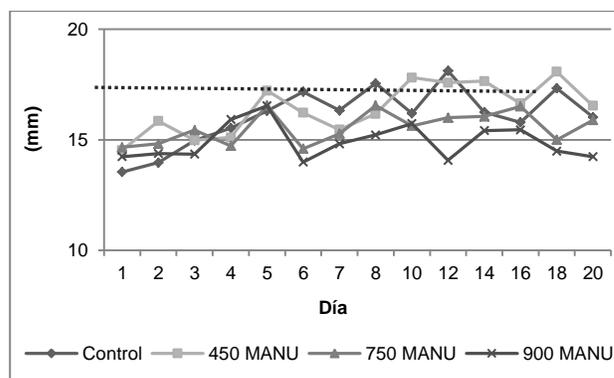


Figura 4. Elasticidad de la miga del pan de agua con y sin alfa amilasa.

Al realizar el análisis de varianza de la elasticidad, se obtiene como resultado que existe diferencia estadísticamente significativa de la elasticidad de la miga entre las cuatro muestras de pan a un nivel de significancia del 5%. Se conforman tres grupos homogéneos de medias entre las cuales no hay diferencia estadísticamente significativa, los cuales son: grupo 1 (pan de agua con 900 MANU/kg), grupo 2 (pan de agua con 750 MANU/kg y pan control) y grupo 3 (pan control y pan con 450MANU/kg), donde el grupo 1 es el que presenta el menor valor de esta propiedad y el grupo 3 el mayor valor de la elasticidad.

Gomosidad

En la figura 5 se observa que los valores de gomosis con las tres concentraciones de enzima (450, 750 y 900 MANU/kg) se encuentran en su mayoría por debajo de los valores de gomosis del pan control. La gomosis se ve afectada en sus valores de mayor a menor según la aplicación de enzima por las concentraciones 750, 450 y 900 MANU/kg, respectivamente.

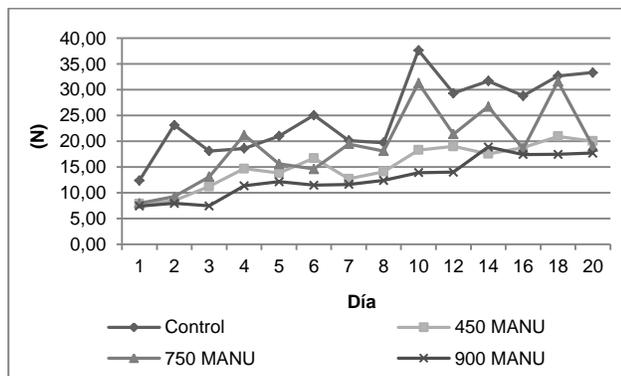


Figura 5. Gomosidad de la miga del pan de agua con y sin alfa amilasa.

Los panes con migas más gomosas son las muestras del pan control y los panes con migas menos gomosas son los elaborados con una concentración de enzima de 900 MANU/kg. Durante los primeros doce días de almacenamiento los panes con esta concentración de enzima son los que presentan valores similares al valor inicial presentado por el pan control el primer día. El comportamiento de esta propiedad es similar al presentado por las durezas 1 y 2 (figura 1 y 2), lo que demuestra que estas propiedades están estrechamente relacionadas.

El análisis de anova señala que existe diferencia estadísticamente significativa entre la gomosis de la migas del pan a un nivel de significancia de 5%.

Masticabilidad

El comportamiento de la masticabilidad de la miga del pan de agua con y sin alfa amilasa durante los 20 días de almacenamiento se observan en la figura 6, presentándose variabilidad de esta propiedad textural en estos días.

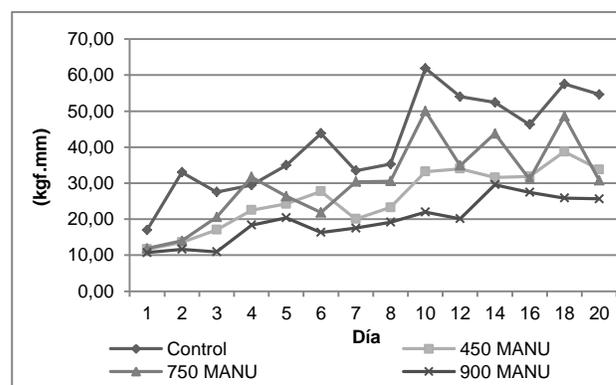


Figura 6. Masticabilidad de la miga del pan de agua con y sin alfa amilasa

La masticabilidad se ve afectada en sus valores de menor a mayor según la aplicación de enzima por las concentraciones 750, 450 y 900 MANU/kg, respectivamente. Al realizar los análisis de varianza de la masticabilidad de la miga de pan elaborados con y sin alfa amilasa almacenados durante los 20 días, se obtiene como resultado que existe diferencia estadísticamente significativa de esta propiedad entre las cuatro muestras a un nivel de significancia del 5%. Se conforman tres grupos homogéneos de medias entre las cuales no hay diferencia estadísticamente significativa, los cuales son: grupo 1 (pan de agua con 900 MANU/kg), grupo 2 (pan de agua con 450 y 750 MANU/kg) y grupo 3 (pan control) al realizar la prueba de LSD.

Adhesividad

En la figura 7 se observa la variación de los valores de la adhesividad de la miga de pan de agua para las muestras con diferentes concentraciones de enzima a través de los 20 días. Los valores de adhesividad con las tres concentraciones de enzima (450, 750 y 900 MANU/kg), son similares en su mayoría de la adhesividad del pan control para cada uno de los días a excepción de adhesividad de la miga de pan con 750 MANU/kg en el día ocho, la cual es mayor. El análisis de anova indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre la adhesividad de la miga de pan de las muestras elaboradas con y sin enzima a un nivel de significancia de 5%.

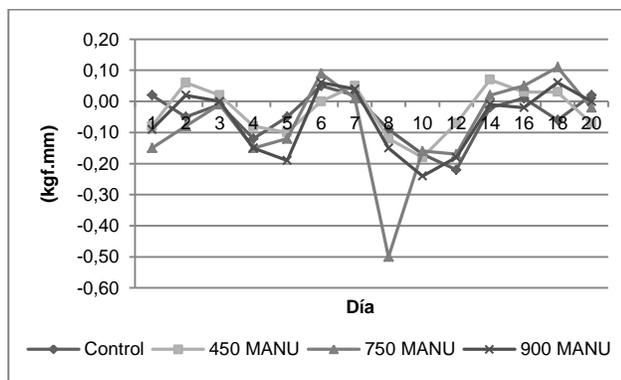


Figura 7. Adhesividad de la miga del pan de agua con y sin alfa amilasa

Al realizar el análisis de cluster con los resultados de las propiedades texturales del pan elaborado del día, muestra control y pan de agua elaborado con las diferentes concentraciones de enzima, utilizando el método del vecino más cercano se puede establecer que las muestras de pan de agua que tienen propiedades texturales similares son las muestras de pan agua elaborado con 450 y 750 MANU/kg, posteriormente se unen a ellos el pan de agua elaborado con 900 MANU/kg. Mientras que el pan control y pan agua elaborado del día, son los

más lejanos (figura 8). La concentración que menos afecta las características con respecto al inicial es la concentración de 900 MANU/kg; entre las concentraciones de enzima no existe diferencia significativa en la mayoría de las propiedades, se puede establecer que la concentración a utilizar es la de 450 MANU/Kg para optimizar el proceso y reducción de costos.

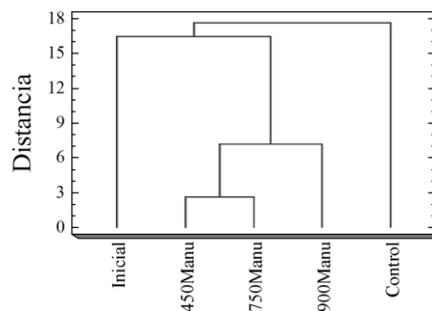


Figura 8. Dendrograma para las características texturales del pan de agua elaborado con diferentes concentraciones de enzima

CONCLUSIONES

La α -amilasa disminuye la dureza de la miga del pan de agua manteniendo su frescura. La concentración de enzima que favorece la conservación de las características texturales de la miga del pan de agua durante 12 días de almacenamiento fue la de 450 MANU/Kg.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Association of Cereal Chemists. (1995a). Method 74-09. Bread firmness by Universal Testing Machine, in Approved Methods of the AACC, 9th edn, 2.

American Association of Cereal Chemists. (1995b). Method 74-10. Staleness of bread, Compression test with Baker Compressimeter, in Approved Methods of the AACC, 9th edn, 2.

Akers, A. and Hosoney, R.C. (1994). Water-soluble dextrans from alpha-amylase-treated bread and their relationship to bread firming. *Cereal Chemistry*, 71, 3: 223-226.

Bechtel, W.G.; Meisner, D.F.; Bradley, W.B. (1953). The effect of crust on the staling of bread. *Cereal Chemistry*, 30: 160-168.

Dunnwind, T. and R, Orsel. (2002). Effect of Oxidative Enzymes on Bulk Rheological Properties of Wheat Flour Doughs. *Journal of Cereal Science* 36:357-366.

Fizman, S.M.; Salvador, A. and Varela, P. (2005). Methodological developments in bread staling assessment: application to enzyme-supplemented brown pan bread. *European Food Research & Technology*, 221, 5: 616-623.

Flander, L.M. (2007). Optimization of ingredients and baking process for improved wholemeal oat bread quality. *LWT*, 40: 860–870.

Guy, R. C.; E, Hodge and Robb. (1983). Effect of waxy barley starch and reheating on firmness of bread crumb. *Cereal Chemistry*, 61: 281 -285.

Hebeda, R.E.; Bowles, L.K. and Teague, W.M. (1990). Developments in enzymes for retarding staling of bread goods. *Cereal Foods World*, 35: 453-457.

Kim, J.H.; Tomoko, M and Naofumi, M.(2006). Effect of fungal α -amylase on the dough properties and bread quality of wheat flour substituted with polished flours. *Food Research International*, 39: 117-126.

Miller, B.S.; Johnson, J.A.; Palmer, D.L. (1953).A comparison of cereal, fungal, and bacterial α -amylases as supplements for breadmaking. *Food Technol*, 7:38-42.

Olesen, T. (1990). Anti-staling process and agent. *European Patent Epo*, 494 233.

Qi SI, J. (1997).Synergistic effect of enzymes for breadbaking. *Cereal Foods World*, 42: 802-807.

Randez, G. F.; Prieto, J.A.; Murcia, A. and Sanz, P. (1995).Construction of baker's yeast strains that secrete *Aspergillus oryzae* alpha-amylase and their use in bread making .*Journal of Cereal Science*, 21:185-193.

Van Dam, H.W. and Hille, J.D.R. (1992). Yeast and enzymes in bread making. *Cereal Foods World*, 37: 245-252.

Veen, B.; Joost, C. M.; Hans, L and Marc Van der Maarel, J. E. C. (2002). Properties and applications of starch converting enzymes of the alpha-amylase. *Journal of Biotechnology*, 94:137–155.