

INFORME:

**ESTRATEGIAS PARA
LA REDUCCIÓN DE
LOS NIVELES DE
ACRILAMIDA EN LOS
ALIMENTOS.**







INDICE:

- **Antecedentes que originan el proyecto.....3.**
 - Justificación.
 - Origen del problema

- **FASE 1: Valoración del contenido en Acrilamida de los principales productos del Sector. Galletería, Pastelería, Panadería y Snacks.....7.**

- **FASE 2: Desarrollo de procedimientos que reduzcan la formación de acrilamida en galletería.....11.**

- **FASE 3: Desarrollo de procedimientos que reduzcan la formación de acrilamida en pastelería.....36.**

- **FASE 4: Desarrollo de procedimientos que reduzcan la formación de acrilamida en panadería.....64.**

- **Conclusiones.....83.**



Antecedentes que originan el proyecto.

JUSTIFICACIÓN:

La idea de realización de este estudio se basa en el **Reglamento 2017/2158 del 20 noviembre, por el que se establecen medidas de mitigación y niveles de referencia para reducir la presencia de acrilamida en los alimentos.**

La acrilamida es una sustancia química que se crea de forma natural principalmente gracias a los azúcares y aminoácidos (sobre todo, la asparagina) que están presentes de forma natural en muchos alimentos principalmente los que contienen almidón durante procesos de cocción cotidianos a altas temperaturas (fritura, cocción, asado y también durante procesos industriales a 120°C y a baja humedad).

La acrilamida y su metabolito, la glicidamida, son genotóxicas y carcinógenas. Puesto que cualquier nivel de exposición a una sustancia genotóxica podría dañar de forma potencial el ADN y conllevar la aparición de cáncer, los científicos de la EFSA concluyen que no pueden establecer una ingesta diaria tolerable (TDI) de acrilamida en alimentos pero establecen unos niveles de seguridad para determinados alimentos. Aplicable a partir del 11 de abril de 2018.

Este reglamento habla la aplicación de prácticas de elaboración que permitan reducir los niveles de acrilamida y de la necesidad de disponer de algunas normas sobre el muestreo y análisis de acrilamida.

Por lo tanto es nuestro sector de transformación de cereales donde Castilla y León es tan fuerte, también es un sector vulnerable a la aplicación de estas recomendaciones, teniendo que cumplir en un futuro próximo con los requisitos de dicho reglamento.



EL ORIGEN DEL PROBLEMA:

La acrilamida (AA) es un compuesto incoloro e inodoro, con bajo peso molecular y altamente soluble en agua (Mc Collister et al., 1964; Smith et al., 1996). Se trata de una sustancia química genotóxica y potencialmente cancerígena para el ser humano que se forma durante la cocción a alta temperatura, cuando el agua, el azúcar y los aminoácidos se combinan para crear el sabor, la textura, el color y el olor característicos de un alimento (Elbashir et al., 2014; Notardonato et al., 2013). Las inquietudes sobre la exposición a la acrilamida surgieron en 2002, cuando la Administración Nacional de Alimentos de Suecia y la Universidad de Estocolmo encontraron que los alimentos ricos en carbohidratos que habían sido sometidos a procesos a altas temperaturas ($> 120^{\circ}\text{C}$) como cocinado, asado, fritura, tostado u horneado, contenían niveles relativamente altos de acrilamida en concentraciones del orden de $\mu\text{g} / \text{Kg}$ (Stadler et al., 2002; Tareke et al., 2002).

La formación de la acrilamida en los alimentos está relacionada con la reacción de Maillard y, particularmente, entre ciertos aminoácidos (principalmente la asparagina) y los azúcares reductores (glucosa y fructosa) (Mottram et al., 2002; Oracz et al., 2011; Sanny et al., 2012; Stadler et al., 2002; Zyzak et al., 2003), aunque la contribución de los productos de la oxidación de lípidos en alimentos ricos en grasas también es relevante (Zamora e Hidalgo, 2008). Por otro lado, la formación de la acrilamida está influenciada por la temperatura, tiempo, pH, humedad y la actividad de agua. Por ejemplo, tiempos de cocción largos y temperaturas más altas del producto forman más acrilamida que los tiempos de cocción cortos y temperaturas más bajas.

En la actualidad, no hay un método analítico oficial disponible para la determinación de acrilamida en alimentos. Habitualmente se emplean métodos basados en la espectrometría de masas como técnica de identificación de la acrilamida, junto con la cromatografía líquida (HPLC) o cromatografía de gases (GC); aunque también existen técnicas más novedosas como la electroforesis capilar (CE), la prueba inmunoenzimática (ELISA) y los biosensores electroquímicos.



El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) estimó la ingesta media de acrilamida en la dieta para la población general, incluyendo niños, entre 1 y 4 μg / kg peso corporal/día. Sin embargo, esta ingesta está muy influenciada por la edad (Konings et al., 2003; Saleh y El-Okazy, 2007). La población de mayor edad tiende a consumir menos acrilamida. Al contrario, la población adolescente es el grupo con mayor probabilidad de tener una alta ingesta, debido a sus hábitos alimentarios. Además, los niños y adolescentes tienen un promedio más bajo de peso corporal que el adulto y, en consecuencia, un consumo promedio de acrilamida más alto por kilogramo de peso corporal (Delgado-Andrade et al., 2012).



FASE 1: Valoración del contenido en Acrilamida de los principales productos del Sector Galletería, Pastelería, Panadería y Snacks.

En 2007, la Comisión de la UE estableció ‘valores indicativos’ para acrilamida en diversos productos alimenticios que contienen altos niveles de acrilamida y/o contribuyen significativamente a la dieta humana. Estos valores indicativos se establecen en la Recomendación 2013/647 / UE (ver tabla 1).

Table 2: Indicative values for AA in foodstuffs according to Commission Recommendation 2013/647/EU

| Foodstuff | Indicative value (µg/kg) |
|---|--------------------------|
| French fries ready-to-eat | 600 |
| Potato crisps from fresh potatoes and from potato dough | 1 000 |
| Potato based crackers | |
| Soft bread | |
| - Wheat based bread | 80 |
| - Soft bread other than wheat based bread | 150 |
| Breakfast cereals (excl. porridge) | |
| - bran products and whole grain cereals, gun puffed grain (gun puffed only relevant if labelled) | 400 |
| - wheat and rye based products ⁽¹⁾ | 300 |
| - maize, oat, spelt, barley and rice based products ⁽¹⁾ | 200 |
| Biscuits and wafers | 500 |
| Crackers with the exception of potato based crackers | 500 |
| Crispbread | 450 |
| Gingerbread | 1 000 |
| Products similar to the other products in this category | 500 |
| Roast coffee | 450 |
| Instant (soluble coffee) | 900 |
| Coffee substitutes | |
| (a) coffee substitutes mainly based on cereals | 2 000 |
| (b) other coffee substitutes | 4 000 |
| Baby food, other than processed cereal based foods ⁽²⁾ | |
| (a) not containing prunes | 50 |
| (b) containing prunes | 80 |
| Biscuits and rusks for infants and young children | 200 |
| Processed cereal based foods for infants and young children ⁽³⁾ , excl. biscuits and rusks | 50 |

(1): Non-whole grain and/or non-bran based cereals. The cereal present in the largest quantity determines the category.

¹⁵ Commission Recommendation of 8 November 2013 on investigation into the levels of acrylamide in food, OJ L 301, 12.11.2013, p. 15–17.

Tabla 1. Valores indicativos de acrilamida para productos de panadería de acuerdo con la EFSA y la Comisión Europea.



Según la Recomendación, los "valores indicativos" no son umbrales de seguridad, sino que solo pretenden indicar la necesidad de una investigación en profundidad y una evaluación de si se han tomado las medidas de mitigación adecuadas para su formación. La Recomendación recoge que: *'Las investigaciones deben continuar incluyendo el Análisis de riesgos y puntos críticos de control (HACCP) del operador de la industria alimentaria o un sistema similar con el fin de explorar con el operador de la industria alimentaria si se han identificado los pasos de procesamiento relevantes susceptibles de la formación de acrilamida y si se han tomado las medidas apropiadas para controlarlos'*. Para valorar la necesidad de medidas adicionales, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha evaluado el riesgo para la salud humana relacionado con la presencia de acrilamida en alimentos.

Los estudios llevados a cabo por la CE desde 2007 muestran que el contenido de acrilamida en los alimentos varía entre 30 y 4700 µg / kg dependiendo del tipo de producto (EFSA, 2010). El único valor legislado para Acrilamida es el límite máximo establecido para el agua potable, que es de 0,1 µg/l de agua (Real Decreto, 1047/2002).

Los alimentos que contribuyen en la ingesta diaria alimentaria varían de un país a otro. Además, la EFSA mostró que los niveles medios de acrilamida varían también según el tipo de alimento. Las patatas fritas (~ 272-570 µg /kg), los productos de panadería (~ 75-1044 µg /kg), y el café y sus sustitutos (~ 229-890 µg /kg) son las tres principales categorías de alimentos que contienen acrilamida, y también son los principales contribuyentes a la exposición de adultos a la ingesta (EFSA, 2011; FAO/OMS, 2011; Konings et al., 2003) aunque sus contenidos, por el momento, no se encuentran legislados. Se estima que los productos de panadería pueden contribuir al 20-60% de la ingesta media total.

En los productos de cereal, el contenido de acrilamida puede variar desde valores no detectados, como se observa en las migas de pan (Ahrné et al., 2007) a más de 2000µg/kg en productos como galletas (Mojska et al., 2010). Según la EFSA, sólo en 2010, entre un 3 y un 7% de los productos de cereal excedieron el límite indicativo, excepto para los

alimentos de la categoría "galletas, galletas saladas, pan tostado y similares", donde más del 12% de las muestras lo superaron (ver figura 1). Por lo tanto, se debe prestar especial atención a las acciones de mitigación para reducir los niveles de acrilamida en este tipo de productos (Mesías y Morales, 2016).

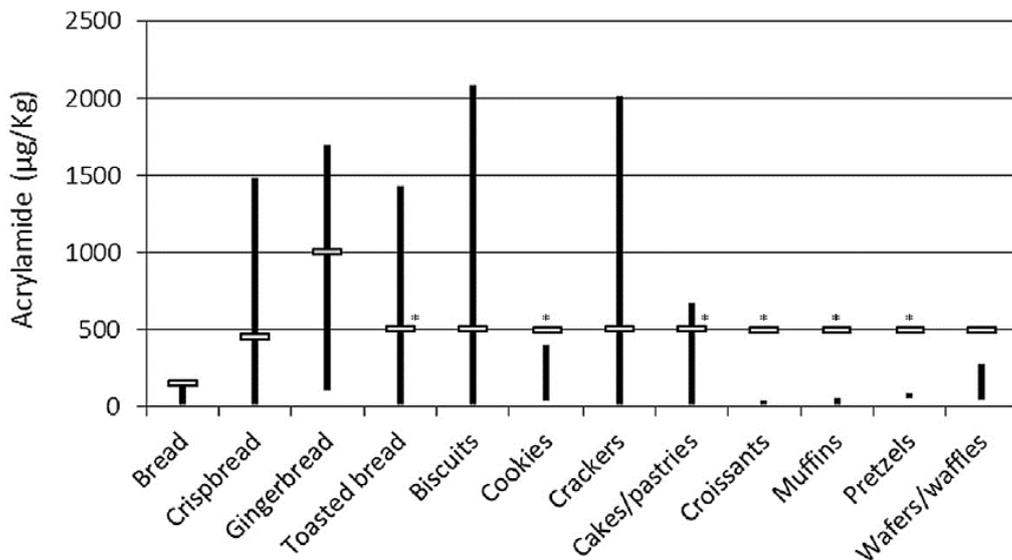


Figura 1. Rango de contenido de acrilamida encontrado en los diferentes productos de panadería de acuerdo a la literatura. Los valores indicativos de acrilamida de acuerdo con la Recomendación de la CE han sido representados con un cuadrado blanco. Los productos que no tienen asignado un valor indicativo específico han sido representados con un asterisco.

Los niveles de acrilamida en algunos productos de panadería no son demasiado altos, como en el caso del pan común o pan fresco. Esto se explica porque entre el 90 y 99 % de la acrilamida formada durante la cocción del pan se encuentra fundamentalmente en su corteza. La falta de acrilamida en la miga se debe a que la temperatura interna



de la miga de pan no supera los 100° C durante la cocción (Ahrné et al., 2007; Friedman y Finot, 1991; Surdyk et al., 2004). No obstante, su consumo diario en grandes cantidades explica su importancia como fuente de exposición a la acrilamida en la dieta.

Por tanto, es necesario evaluar los niveles de acrilamida y establecer estrategias para mitigar su formación y reducir la exposición a este compuesto. La industria europea de alimentos y bebidas (CIAA) definió un total de 13 parámetros de control, incluyendo los factores agronómicos (cultivos, contenidos en azúcares y asparagina), la formulación (bicarbonato de amonio, pH, actividad de agua, ingredientes menores), el proceso (fermentación, temperatura y tiempo de horneado) y la preparación final (punto final del color, textura / sabor y almacenamiento / vida útil / preparación del consumidor) necesarios para controlar la concentración de acrilamida en los productos (CIAA, 2006; Claus et al., 2008; De Vleeschouwer et al., 2010; Muttucumaru et al., 2008).

A la hora de seleccionar los productos sobre los que realizar el estudio de reducción de acrilamida, se realizaron algunas determinaciones de los niveles para ayudarnos a elegir los productos sobre los que trabajar.



FASE 2: Desarrollo de procedimientos (ingredientes y procesos) que reduzcan la formación de acrilamida en galletería.

Las estrategias de mitigación de la acrilamida comprenden desde las materias primas empleadas en las diversas elaboraciones hasta el proceso de elaboración llevado a cabo.

INGREDIENTES:

El aminoácido **asparagina**, se considera el principal precursor de la acrilamida en los alimentos y se ha confirmado que su contenido es el factor limitante para su formación. En productos de panadería, la principal fuente de asparagina libre es la harina, seguida por otros ingredientes como la miel, el jengibre o las nueces. Existen multitud de estudios que relacionan el contenido en asparagina con la formación de acrilamida resultante. Como ejemplo, Surdyk et al. (2004) informaron que la incorporación de asparagina a la masa de pan de trigo en un rango de 0.1-0.7 μg / 100 g de harina aumentaba significativamente el contenido de acrilamida en la corteza, alcanzando valores de hasta 6000 μg / kg. Levine y Smith (2005) y Amrein et al. (2004) observaron que la adición de asparagina a la masa de las galletas y el pan de jengibre causó también un aumento en los niveles de acrilamida.

Para evitar este efecto, una de las estrategias de mitigación es la incorporación a las masas de asparaginasa. Esta enzima reduce la asparagina y por tanto la acrilamida, ya que cataliza la hidrólisis de la asparagina en ácido aspártico y amoníaco. No obstante, el rango de aplicación de la enzima, según se recoge en bibliografía, es muy amplio. Capuano et al. (2008) evaluaron el contenido de acrilamida en pan crujiente tostado y concluyeron que la asparaginasa en la masa de pan daba lugar a una reducción de hasta el 80% en las muestras horneada durante 25 minutos y a una reducción de aproximadamente el 67% en la muestra horneada durante 22 min. Kumar et al. (2014) además añadieron que cuanto más alta es la concentración de la enzima, mayor es la



reducción de la acrilamida. Los niveles disminuyeron de 729 a 24 $\mu\text{g} / \text{kg}$ en la corteza del pan y de 143 a 41 $\mu\text{g} / \text{kg}$ cuando se añadieron 300 U de enzima a la masa. Con dosis de asparaginasa menores, de 0.5-10 U, y cocciones a 200^o durante 15 min, ya se observaron grandes reducciones de acrilamida, de hasta un 81,6% en galletas (biscuits) y 94,2% en panes (Huang et al., 2014). En cuanto a galletería, Vass et al. (2004) o Kukurová et al. (2013) entre otros describieron una disminución de los niveles de acrilamida en, al menos, un 70% cuando se agregó asparaginasa a galletas de trigo. Anese et al. (2011) observaron que las galletas de masa corta con alto contenido de agua (20% en peso total) promovían el desarrollo de la acrilamida, mientras que la presencia de grasa (0 a 15% en peso total) redujo significativamente el desarrollo de la acrilamida y la actividad de la enzima en comparación con las galletas libres de grasa. En este caso, con la incorporación de entre 100-900 U asparaginasa / Kg y un horneado a 200^oC hasta una humedad final de la galleta del 2%, se lograban reducciones de acrilamida de 7-88%.

No obstante, cabe indicar que, aunque la asparaginasa parece ser muy eficiente para la mitigación de acrilamida, su precio resulta elevado en comparación con otras estrategias, lo que limita su uso en la producción de algunos productos de panadería.

El contenido de asparagina varía conforme a los **cereales** empleados en la elaboración. Se han descrito concentraciones de asparagina libre en el rango de 1.74-19.05 $\mu\text{g} / 100$ g para la harina de trigo; 6.46-12.17 $\mu\text{g} / 100$ g para harina de espelta y 41.37-44.10 $\mu\text{g} / 100$ g para harina de centeno (Claus et al., 2006). Otros autores describen concentraciones de asparagina que oscilan entre 75 y 2200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en el trigo, 50 y 1400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en la avena, 70 y 3000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en el maíz, 319 y 880 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en el centeno, y 15 y 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en el arroz. Estos niveles de variación indican que puede haber un margen para reducir la acrilamida aprovechando la variabilidad de asparagina que contiene el cultivo (FAO, 2009; Müller). Sin embargo, han de considerarse también las consecuencias nutricionales y organolépticas de las modificaciones.

El contenido en asparagina de los cereales se relaciona también con factores agronómicos como el año de cosecha, el cultivo, las propiedades del suelo, las



condiciones climáticas y las de almacenamiento (Baskar y Aiswarya, 2018; Claus et al, 2006 y FAO, 2009). En el suelo, deficiencias en el contenido de azufre (S) pueden provocar un incremento en los niveles de asparagina en el trigo y la cebada de hasta 30 veces el contenido normal (Keramat et al., 2011). Por ello no se recomienda emplear cereales procedentes de un suelo deficiente en (S). Muttucumaru et al. (2006) informaron de una disminución de asparagina en trigo de 92.1 mmol/kg a 4.62mmol/kg cuando la fertilización con (S) es suficiente. Por otro lado, un contenido elevado de nitrógeno (N) en el suelo, puede traducirse en un contenido más alto de aminoácidos y proteínas y, en consecuencia, de asparagina en los cereales y deberá evitarse la aplicación excesiva de fertilizantes de N (Baskar y Aiswarya, 2018; FAO, 2009). Dado que la fertilización con (N) es un requisito previo para aumentar los rendimientos de los cultivos y la calidad de la harina, los contenidos elevados de acrilamida resultantes de esta medida parecen ser inevitables. Sin embargo, la fertilización con nitrógeno debe ser minimizada (Claus et al., 2008).

Las condiciones climáticas desfavorables también pueden dar lugar a un incremento de la acrilamida. Los niveles de asparagina aumentaron en la harina de trigos germinados. La germinación de los granos aumenta la actividad de las enzimas y la actividad proteásica puede llegar a duplicarse, promoviendo la degradación tanto del almidón como de las proteínas y liberando precursores de la acrilamida (Baskar y Aiswarya, 2018; Claus et al., 2006).

Una vez seleccionado el cereal, se debería prestar atención al tipo de harinas utilizadas en los productos. La tasa de extracción de la harina, según lo indicado por el contenido de ceniza, es el factor más relevante que afecta a los niveles de acrilamida en productos de panadería. Las harinas de grado bajo de extracción contienen menos asparagina que las harinas integrales. Sin embargo, reduciendo el contenido integral se reducen también las ventajas nutricionales del producto final (Claus et al., 2006; FAO, 2009; Müller). Haase et al. (2003) afirmaron que casi se duplicaron los niveles de acrilamida en las obleas cuando se usó harina tipo 1050 (~ 1.05% de ceniza) en lugar de tipo 550 (~ 0.55% de ceniza).



El tipo y la concentración de **azúcares** también juegan un papel crucial en el desarrollo de la acrilamida. La sustitución de los azúcares reductores (glucosa o fructosa) por sacarosa es otra forma efectiva de reducir el contenido de acrilamida en galletería cuando el color marrón tostado no es tan importante (FAO, 2009; Keramat et al., 2011). Si se elimina la fructosa o se sustituyen los ingredientes propios del producto (azúcar invertido, purés de fruta o miel entre otros) por azúcar o incluso glucosa, se obtienen buenos resultados en la reducción de la formación de acrilamida.

Vass et al. (2004) y Gökmen et al. (2007), evaluaron la sustitución de azúcares reductores por sacarosa, logrando reducir el contenido de acrilamida en un 60% en galletas saladas y 50% en galletas, respectivamente. Del mismo modo, Graf et al. (2006) emplearon sacarosa en lugar de jarabe de azúcar invertido en la formulación, lo que resultó en un contenido de acrilamida más del 70% menor que el contenido del producto estándar (46 mg / kg frente a 170 mg / kg). En cambio, en galletas la adición de un 1% de fructosa a la harina aumentó la formación de acrilamida en aproximadamente un 20%, mostrando mucha más reactividad que la glucosa y la sacarosa (Hamlet et al., 2007). En cuanto a pan de trigo con levadura, Surdyk et al. (2004) indicaron que la adición de diferentes cantidades de fructosa no influyó en el contenido de acrilamida. Estos resultados coinciden con las observaciones preliminares realizadas en CETECE. La sustitución de jarabe de glucosa por dextrosa y azúcar invertido incrementaron los niveles de acrilamida de las galletas. En cambio, la incorporación de extracto de malta y/o suero parece mostrar contenidos en acrilamida muy adecuados, sin apreciarse modificaciones significativas en el color, morfología o percepción sensorial de las galletas comparando con la muestra patrón.



A su vez, otros de los ingredientes fundamentales empleados en la elaboración de galletas son los **gasificantes**. Los dos principales gasificantes utilizados en galletería son el bicarbonato sódico y el bicarbonato amónico. Ambos se descomponen en dióxido de carbono cuando se exponen al calor. Por su parte, el bicarbonato amónico favorece la formación de acrilamida.

Como alternativa al amónico se encuentran, entre otras, el uso de bicarbonato de sodio, cuya aplicación parece reducir el contenido de acrilamida al aumentar el pH en la matriz alimentaria (Levine y Smith, 2005). Amrein et al. (2004) observaron una disminución en los niveles de acrilamida en un tercio cuando se utilizó bicarbonato de sodio en pan de jengibre, en lugar de bicarbonato de amonio. Del mismo modo, el reemplazo completo de bicarbonato amónico por sódico redujo el contenido en acrilamida en más del 70% en galletas (Graf et al., 2006; Levine y Smith, 2005). No obstante, se prevé un impacto negativo tanto en las propiedades físicas como organolépticas de las galletas derivadas de una sustitución total del bicarbonato amónico por sódico (por ejemplo, un menor desarrollo, al tiempo que la aparición de aromas extraños no deseados en el producto), por lo que se recomienda un reemplazo parcial, aunque no se logre una disminución de la acrilamida tan notable.

En esta línea, la sustitución de gasificantes utilizados habitualmente incluye el uso de:

- Bicarbonato sódico + acidulantes;
- Difosfato disódico, bicarbonato sódico y ácidos orgánicos;
- Bicarbonato potásico + bitartrato potásico;
- Bicarbonato sódico + pirofosfato ácido sódico (SAPP).



Graf et al. (2006) estudiaron la incorporación de ácido tartárico (195 g / 100 kg) en galletas, logrando reducir el contenido de acrilamida aproximadamente un tercio respecto al del patrón. Con respecto a las pruebas realizadas en CETECE, éstas han mostrado que la combinación de bicarbonato de sodio (en dosis de 0.4% sobre harina) con ácidos orgánicos, como el ácido tartárico, pirofosfato ácido de sodio o, incluso, fosfato monocálcico (en dosis de 0.1% sobre harina) daban lugar a un producto menos desarrollado, con un menor diámetro y menor expansión de las galletas, al tiempo que un menor color tostado de las mismas. Estas muestras resultaban también las más firmes (mayor dureza).

No obstante, es necesario tener en cuenta que la cantidad de ácidos orgánicos debe limitarse porque se pueden producir aromas o sabores ácidos no deseados y liberarse gas en la masa con demasiada rapidez.

PARÁMETROS DE PROCESO:

En cuanto a los **factores de proceso**, indicar que existe una fuerte correlación entre la formación de acrilamida y la **temperatura y el tiempo de cocción** (Ahrné et al. 2007; Claus et al., 2008; Surdyk et al. 2004). La formación de acrilamida puede reducirse modificando el tiempo y la temperatura de horneado (Halford et al., 2012; Lim et al., 2014); en particular reduciendo la temperatura en las últimas etapas, cuando el producto llega a la fase decisiva y vulnerable de poca humedad.

A temperaturas bajas, la acrilamida se forma a lo largo del tiempo. Sin embargo, a temperaturas más altas, se alcanza la máxima formación de acrilamida en un corto periodo de tiempo y luego los niveles de acrilamida disminuyen debido a una alta tasa de degradación (Açar y Gökmen, 2010). No obstante, como se ha indicado anteriormente, se requiere una temperatura $>120^{\circ}\text{C}$ para su formación.



Amrein et al. (2004) investigaron la influencia de la temperatura y el tiempo en la formación de acrilamida en pan de jengibre. Estos autores observaron un aumento de los niveles de acrilamida cuando los panes se hornearon a 180 y 200 ° C durante 20 min y una disminución cuando se prolongó el tiempo de calentamiento. Se ha demostrado que temperaturas y tiempos de cocción más altos disminuyen el contenido de humedad en el pan horneado, promoviendo la formación de la corteza en la superficie en una proporción mayor, del 30% cuando se hornea a 170 ° C durante 17 min y del 45 % cuando se hornea a 270 ° C durante 32 min (Surdyk et al., 2004). Ahrné et al. (2007) informaron que la mayor concentración de acrilamida se obtenía en el pan horneado a 260 ° C durante 15 minutos, mientras que los niveles descendieron al prolongar el tiempo de cocción hasta 20 minutos. Además, la concentración de acrilamida y el color están bien correlacionados, pero solo hasta una diferencia de color total de $\Delta E = 65$, por encima de la cual el contenido de acrilamida comienza a disminuir. Sin embargo, tales colores de la corteza (diferencia de color total superior a $\Delta E > 60$) serían considerados como inaceptables por el consumidor (Ahrné et al., 2007).

Del mismo modo, Marconi et al. (2010) observaron niveles más bajos de acrilamida en mantecados horneados a 300 ° C durante 3 min en comparación con los horneados a 240 ° C durante 7 min. En galletas, Mogol y Gökmen (2014) informaron que el aumento de la temperatura o el tiempo de horneado significativamente aumentó las cantidades de acrilamida formadas. A una temperatura constante (200 ° C), los niveles de acrilamida aumentaron de 39 a 211 $\mu\text{g} / \text{kg}$ cuando la duración del tratamiento aumentó de 8 y 15 minutos. En paralelo, a un tiempo constante de cocción (13 min), los niveles de acrilamida aumentaron de 21 a 191 $\mu\text{g} / \text{kg}$ cuando la temperatura de cocción se incrementó de 180 a 200° C.

Con el objetivo de lograr una reducción en el contenido de acrilamida de las muestras y, en base a los factores citados, se establece el estudio de las galletas considerando nueve alternativas en formulación. Al mismo tiempo, se evaluará la influencia del tiempo de cocción en los contenidos de acrilamida resultantes en el producto final.



El estudio de galletería queda distribuido del siguiente modo:

- Estudiar en fase práctica qué ingredientes son eficaces en la reducción de acrilamida para galletas (sustitución de azúcares, enzimas hidrolíticas, cambios de impulsores, etc).
- Estudiar los parámetros del proceso de elaboración de galletas que afectan en mayor o menor medida a la producción de la acrilamida (tiempos y temperaturas).

El estudio se lleva a cabo sobre galletas rotativas.

Los análisis necesarios de acrilamida dentro de esta fase son realizados por Itacyl.

En primer lugar, se inicia el estudio a partir de una fórmula y un proceso de elaboración tipo de galleta rotativa. Esta es la muestra que se toma como referencia y a partir de la cual se establecen las comparativas entre muestras. La fórmula contiene los siguientes ingredientes

| INGREDIENTES |
|--------------------------|
| HARINA GALLETERA |
| AZÚCAR |
| JARABE DE GLUCOSA (5%) |
| ACEITE DE GIRASOL |
| LECITINA DE SOJA |
| LECHE DESNATADA EN POLVO |
| SAL |
| BICARBONATO AMÓNICO |
| BICARBONATO SÓDICO |
| AGUA |
| VAINILLINA |

Tabla 2. ingredientes galletas rotativas.



A continuación se presentan las alternativas consideradas en este apartado para la elaboración de galletas:

| CODIGO | | DESCRIPCIÓN DE LA PRUEBA |
|--------|---------|--|
| PATRÓN | | Galleta elaborada de acuerdo a una fórmula tipo |
| P1 | ↓BA | Fórmula reduciendo un 50% del B. amónico y sustituyéndolo por bitartrato potásico |
| P3 | ↓JG.JM | Fórmula reduciendo el jarabe de glucosa al 50% e incorporando un 1% de jarabe de malta |
| P4 | ASP*. | Fórmula incorporando asparaginasa en dosis de 30g/100kg de harina |
| P5 | ↓JG.PL | Fórmula reduciendo un 50% del jarabe de glucosa, incorporando un 2% de proteína láctea y aumentando el agua hasta el 7,1%. |
| P6 | PL 4% | Fórmula sustituyendo el jarabe de glucosa por un 4% de proteína láctea y aumentando el agua hasta el 9%. |
| P7 | FOS | Fórmula sustituyendo el jarabe de glucosa por FOS 60 |
| P8 | ARROZ | Fórmula sustituyendo un 30% de la harina de trigo por harina de arroz. |
| P9 | CENTENO | Fórmula sustituyendo un 30% de la harina de trigo por harina de centeno. |
| P10 | ↓min | Fórmula patrón poco cocida. |
| P11 | ↑min | Fórmula patrón muy cocida. |

Tabla 3. Alternativas a estudiar en la elaboración de galletas rotativas.

*Al tratarse de galletas rotativas fue necesario añadir la enzima en agua caliente >30 °C (30-45°) para que se active unos 10 min y después incorporar al batido.

PROCESO DE ELABORACIÓN.

Se realizó un Test a cada producto donde se prestó especial atención a los parámetros más influyentes en el proceso de elaboración; Tª de los ingredientes, Control del amasado ((Tª masa, tiempo de amasado), Tiempos de reposo, Control del horneado (Expansión, Tª cocción, tiempo de horneado).

PROCESO DE ELABORACIÓN

Amasado:

Tiempo de cremado: 8 minutos

Tiempo de amasado: 4 minutos

Formado.

Horneado:

Temperatura: 170°C.

Tiempo: 10 minutos / variable.

Tabla 4. Parámetros del proceso de elaboración de las galletas

A continuación, se presenta una imagen que detalla las distintas galletas elaboradas:



Figura 2. Imagen de las galletas elaboradas.



CARACTERIZACIÓN FÍSICA

Los parámetros caracterizados son aquellos que se estiman de mayor interés en estos productos, como el peso y la altura de 10 galletas, el color y la textura. La medida de color se ha realizado al menos en 12 galletas con ayuda del colorímetro Minolta CR-410 y dentro del espacio internacional de color CIELab*. Seguidamente se muestra su caracterización física, incluyendo la textura de las galletas.

| PRUEBA | COD. | PESO 10 (g) | ALTURA 10 (cm) | COLOR | | |
|--------|---------|-------------|----------------|-------|-------|-------|
| | | | | L* | a* | b* |
| PATRÓN | PATRÓN | 167,5 | 7,6 | 57,18 | 14,56 | 37,26 |
| P1 | ↓BA | 170,0 | 7,8 | 58,46 | 13,40 | 37,15 |
| P3 | ↓JG.JM | 162,0 | 7,4 | 49,25 | 13,66 | 31,70 |
| P4 | ASP. | 157,0 | 8,6 | 56,20 | 15,54 | 37,35 |
| P5 | ↓JG.PL | 174,3 | 9,3 | 53,82 | 17,28 | 38,05 |
| P6 | PL 4% | 191,3 | 10,2 | 56,99 | 16,53 | 39,68 |
| P7 | FOS | 156,5 | 7,7 | 54,36 | 16,16 | 37,09 |
| P8 | ARROZ | 166,3 | 8,7 | 58,69 | 13,42 | 36,88 |
| P9 | CENTENO | 145,0 | 7,7 | 56,34 | 15,41 | 37,33 |
| P10 | ↓min | 180,0 | 7,6 | 62,30 | 12,31 | 36,90 |
| P11 | ↑min | 161,0 | 7,8 | 53,81 | 15,21 | 33,99 |

Tabla 5. Caracterización física de las galletas.

Las galletas que presentan una expansión y peso significativamente mayores son las elaboradas sin jarabe de glucosa y con un 4% de proteína láctea (P6). Por el contrario, las más ligeras son las elaboradas con sustitución del 30% de harina de trigo por harina de centeno. En relación al color, y según datos aportados recientemente por el Dr. Francisco Morales del CSIC, el parámetro que más información aporta sobre el predominio de acrilamida a priori es el valor a* (+) en este sentido las muestras con valores más elevados es la muestra (P5 (bajas en Jarabe de glucosa y con proteína láctea), seguida de la P6 (4% proteína láctea) y P7 (con FOS 60 en lugar de jarabe de glucosa), mientras que los valores de a* más bajos los presenta las muestras (P10 las menos cocidas, P8 con harina de arroz y P1, reducción de amónico).



Determinación de la textura

El ensayo de textura se realizó empleando un texturómetro TAXPlus por penetración de una sonda de acero inoxidable de 6mm de diámetro en el producto, registrando la fuerza de resistencia en g. de fuerza. De tal forma que a mayor fuerza más dura será la galleta.

Las condiciones del ensayo de penetración fueron:

- Velocidad de preensayo: 8 mm/s
- Velocidad de ensayo: 2 mm/s
- Velocidad de post-ensayo: 10 mm/s
- Penetración de la sonda: 10 mm.

Se realizaron un total de 10 mediciones por fórmula, a razón de una medida por galleta. A partir de las curvas generadas se tomaron los datos de Dureza máxima (que da cuenta de la dureza de la galleta) y el número de picos positivos, que informa acerca de la fracturabilidad o crujencia que muestra la galleta (mayor número de picos generalmente se relaciona con una mayor crujencia).

Los resultados obtenidos se presentan a continuación:

| PRUEBA | COD. | DUREZA (g) | CRUJENCIA (nº picos +) | Comentarios: |
|--------|---------|----------------|------------------------|-------------------------------------|
| PATRÓN | PATRÓN | 2170,03 | 59 | |
| P1 | ↓BA | 2868,87 | 60 | Más dura |
| P3 | ↓JG.JM | 1696,29 | 52 | Menos crujiente |
| P4 | ASP. | 1897,45 | 60 | |
| P5 | ↓JG.PL | 2223,19 | 63 | Firme y crujiente |
| P6 | PL 4% | 1995,43 | 54 | Más blanda y menos crujiente |
| P7 | FOS 60 | 1759,86 | 59 | |
| P8 | ARROZ | 2107,76 | 56 | |
| P9 | CENTENO | 1427,44 | 64 | Blanda pero muy crujiente. |
| P10 | ↓min | 1969,24 | 56 | |
| P11 | ↑min | 2390,95 | 64 | Más firme y muy crujiente |

Tabla 6. Resultados de textura de las galletas.

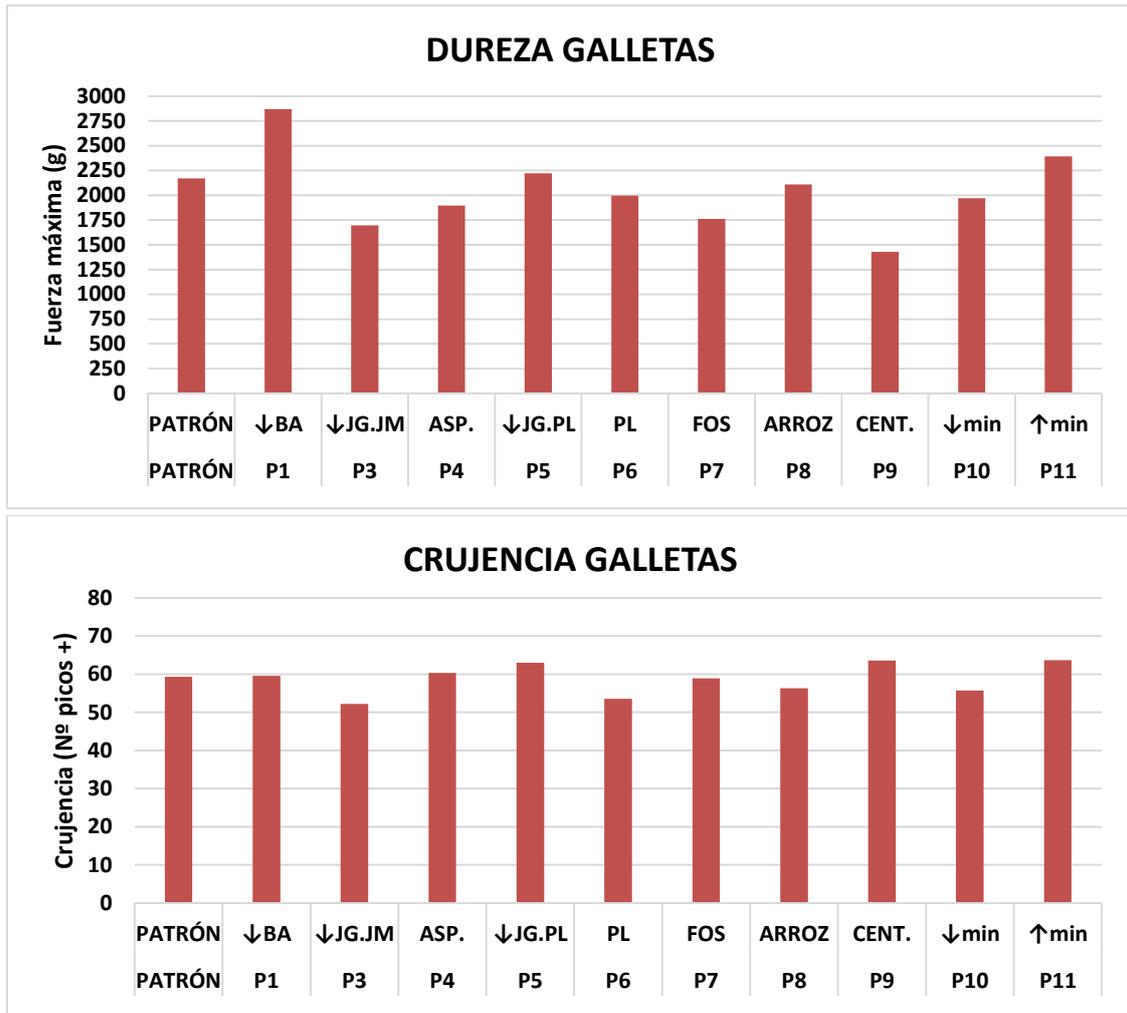


Figura 3. Gráficos de textura de las galletas elaboradas.

De acuerdo a la textura de las galletas, se aprecian diferencias de dureza entre muestras, aunque no así en la crujiencia que dio lugar a resultados muy homogéneos en todas las muestras elaboradas.

Entre todas las galletas, se aprecia una mayor dureza en la muestra P1 (reducida en bicarbonato amónico) ya que este ingrediente ejerce efecto gasificante en la masa durante el horneado. Por el contrario, la galleta con harina de centeno destaca como la más tierna al tiempo que es de las más crujiencias, lo que le otorga una textura muy adecuada.



DETERMINACIÓN ANALÍTICA DE ACRILAMIDA

Los resultados obtenidos de los análisis realizados en las distintas muestras de galletas, se recogen en la siguiente tabla:

| PRUEBA | COD. | Acrilamida (µg/kg) | % reducción acrilamida | |
|--------|---------|--------------------|------------------------|--|
| PATRÓN | PATRÓN | 266±35 | -- | |
| P1 | ↓BA | 205±35 | 23 | |
| P3 | ↓JG.JM | 199±35 | 25.2 | |
| P4 | ASP. | 223±35 | 16.1 | No nos cuadró el resultado, se esperaba mayor reducción. Se estudió las características de la enzima y forma de uso. |
| P5 | ↓JG.PL | 166±35 | 37,6 | |
| P6 | PL | 74±35 | 72.2 | |
| P7 | FOS | 328±35 | -23,3 | |
| P8 | ARROZ | 206±35 | 22.6 | No nos cuadró el resultado obtenido (308±35). Se esperaba mayor reducción, se comprobaron las muestras enviadas y se detectó un error con el centeno (206±35). |
| P9 | CENTENO | 308±35 | -15.8 | |
| P10 | ↓min | 205±35 | 22.9 | Lo esperado |
| P11 | ↑min | 318±35 | -19.5 | Lo esperado |

Tabla 7. Resultados de contenido de acrilamida de las galletas

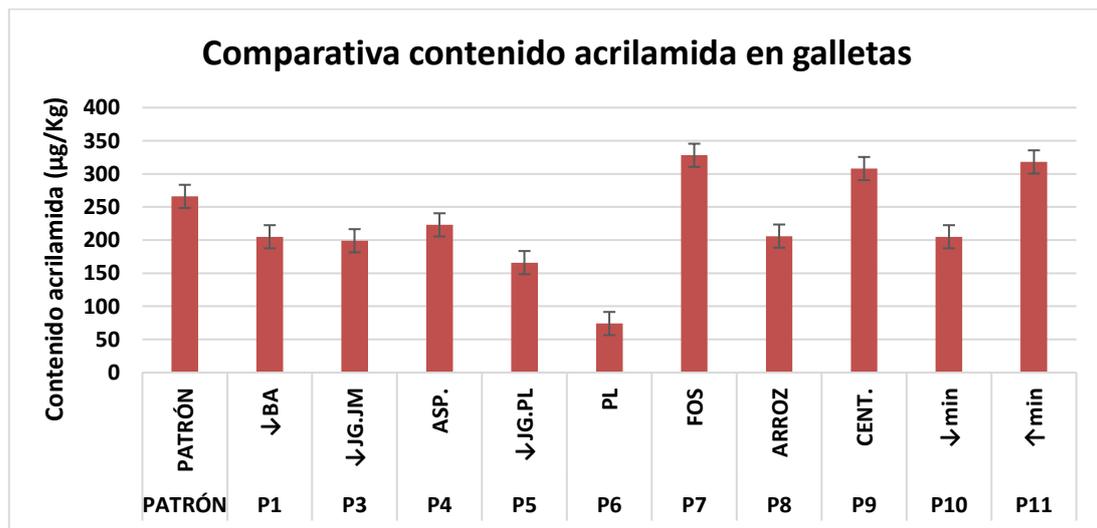


Figura 4. Comparativa del contenido en acrilamida de las galletas elaboradas.



La muestra con menor contenido en acrilamida es P7 (sin jarabe de glucosa y con proteína láctea). Por el contrario, aquellas galletas que presentan un contenido significativamente mayor son P7 (elaborada con fructooligosacáridos), seguida de P11 (patrón más cocida).

CARACTERIZACIÓN SENSORIAL

Se ha realizado una caracterización sensorial de las galletas empleando una ficha de cata desarrollada para tal fin. Las galletas fueron valoradas por un panel de cata entrenado, considerando la valoración de cada descriptor dentro de una escala de 5 puntos de intensidad donde el 1 es la puntuación más baja mientras que el 5 es la máxima.

1-ASPECTO EXTERNO CAMELIZADO. Mediante la vista valoramos el color dorado externo del producto y valoramos dentro de la escala de 5 puntos con 1 si está poco dorado hasta 5 si está muy caramelizado.

2-OLOR INTENSIDAD: Por vía directa se valoran las notas olfativas propias para este producto, recuerdos a tostado, dulce, cereal, caramelizado, etc.

3-TEXTURA CRUJIENTE AL MASTICAR: AL deformar el producto se aprecia el ruido. Se valora con 1 si es poco crujiente hasta 5 si es muy crujiente.

4-TEXTURA FIRME. Al deformar las galletas estas puede ofrecer cierta resistencia a la ruptura. Deben ser fracturables, pero firmes.

5-SABOR DULCE: Durante la masticación del producto en la boca se puede apreciar el sabor fundamental dulce. La escala va de 1 nada dulce a 5 muy dulce.

6-INTENSIDAD DE AROMAS PROPIOS: Por vía retronasal se aprecia la intensidad de las notas a tostado, cereal etc. Son las notas propias de este producto.

7-AUSENCIA DE EXTRAÑOS: También por vía retronasal comprobamos que no se aprecien notas extrañas, a enranciamientos, amargos, medicinales, envejecido, etc.

8-CALIDAD GLOBAL: Valoración general del producto en cuanto a equilibrio de los distintos descriptores sensoriales.



Código catador: _____ Fecha: _____

| DESCRIPTORES SENSORIALES | Cód. _____ | Cód. _____ | Cód. _____ |
|---|------------|------------|------------|
| 1-ASPECTO EXTERNO TOSTADO CARAMELIZADO De 1 CREMA a 5 DORADO OSCURECIDO | | | |
| 2-OLOR INTENSIDAD PROPIO De 1 NADA INTENSO a 5 MUY INTENSO | | | |
| 3-TEXTURA CRUJIENTE AL MASTICAR De 1 REVENIDA A 5 MUY CRUJIENTE | | | |
| 4-TEXTURA FIRME AL MORDER De 1 BLANDA A 5 MUY FIRME | | | |
| 5-SABOR DULCE DE 1 NADA APRECIABLE A 5 INTENSO | | | |
| 6-AROMA PROPIO (CEREAL, TOSTADO, CARAMELO) De 1 NADA APRECIABLE a 5 BASTANTE APRECIABLE | | | |
| 7-AUSENCIA DE AROMAS EXTRAÑOS (ENRANCIAMIENTOS, ETC.) De 1 EXTRAÑOS PRESENTES a 5 AUSENCIA COMPLETA | | | |
| 8-CAUIDAD GLOBAL De 1 NADA ADECUADO a 5 MUY ADECUADO | | | |
| Comentarios Grosor de las muestras, poco cocido interior, amargor, etc. | | | |

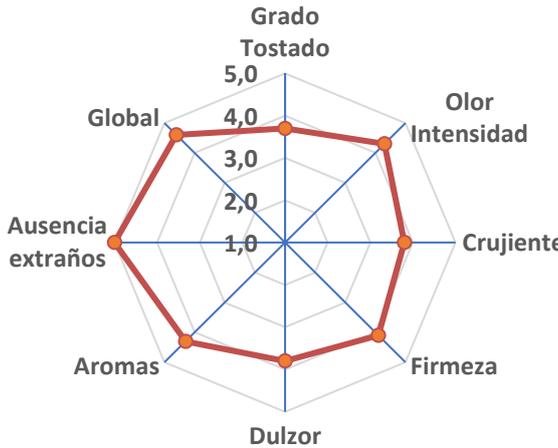
A partir de las puntuaciones obtenidas se llevó a cabo un análisis estadístico de los resultados, de acuerdo a un análisis de la varianza (ANOVA) para comprobar la existencia de diferencias significativas al 95% de confianza entre los parámetros sensoriales evaluados. Para ello se empleó el programa estadístico Statgraphics Centurión v. XVI.

A continuación, se presentan los resultados sensoriales obtenidos:

PATRÓN



Galleta PATRÓN



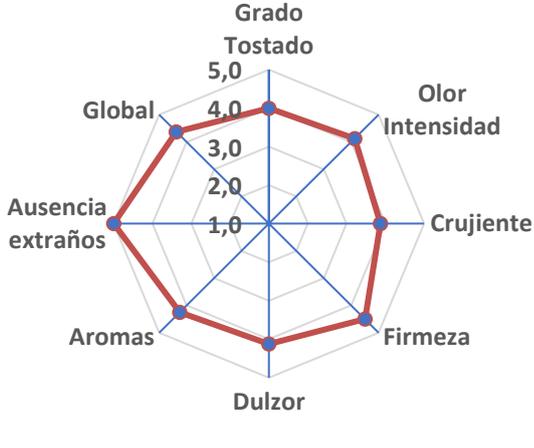
| Attribute | Score |
|-------------------|-------|
| Grado Tostado | 4,0 |
| Olor Intensidad | 4,0 |
| Crujiente | 3,0 |
| Firmeza | 3,0 |
| Dulzor | 4,0 |
| Aromas | 3,0 |
| Ausencia extraños | 4,0 |
| Global | 4,0 |

La galleta presenta un color tostado apreciable con olor propio a galleta con notas caramelizadas y dulces. La textura al primer mordisco es firme y durante las masticaciones posteriores se aprecia claramente la textura crujiente. El sabor es eminentemente dulce con aromas propios y ausencia completa de aromas extraños no propios del producto. Buena calidad global

P-1



Galleta P-1 (↓BA)



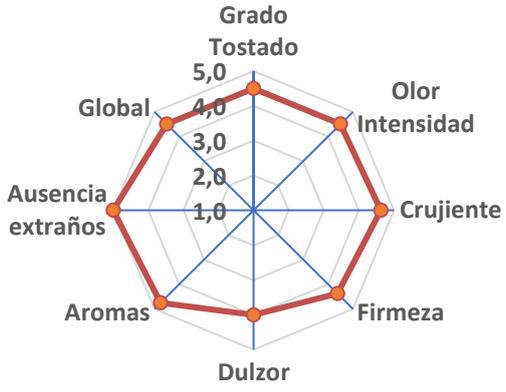
| Attribute | Score |
|-------------------|-------|
| Grado Tostado | 4,0 |
| Olor Intensidad | 3,0 |
| Crujiente | 3,0 |
| Firmeza | 3,0 |
| Dulzor | 4,0 |
| Aromas | 3,0 |
| Ausencia extraños | 4,0 |
| Global | 4,0 |

La galleta presenta un aspecto externo adecuado con color tostado apreciable y con bastante olor propio a galleta. La textura al primer mordisco es muy firme y bastante crujiente. El sabor es claramente dulce y presenta aromas propios de intensidad elevada a notas caramelizadas, tostadas y dulces, con ausencia completa de aromas extraños no propios del producto. Buena calidad global

P-3

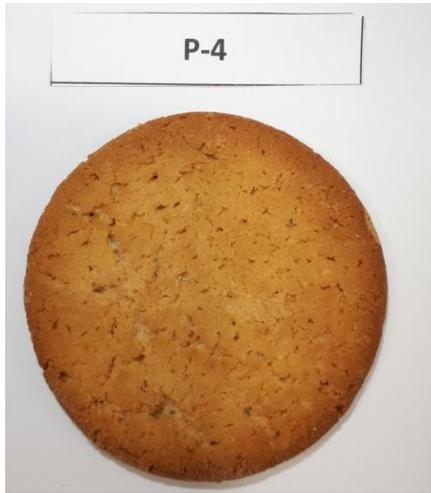


Galleta P-3 (↓JG.JMalta)

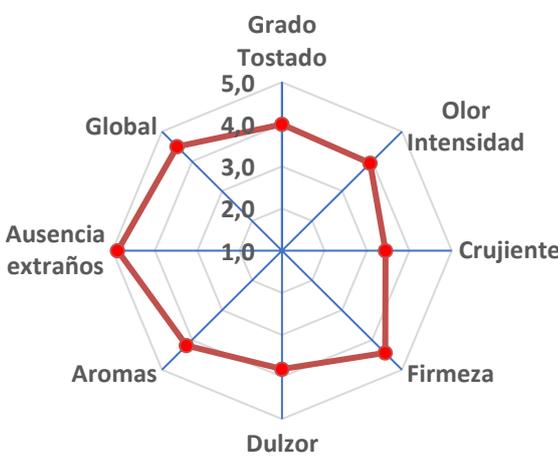


La galleta presenta un color tostado bastante intenso así como un elevado olor propio a galleta tostada, con notas caramelizadas y dulces. La textura al primer mordisco es bastante firme y durante las masticaciones posteriores se aprecia mucha textura crujiente. El sabor es eminentemente dulce con aromas propios muy intensos destacando las notas torrefactas y ausencia completa de aromas extraños no propios del producto. Buena calidad global

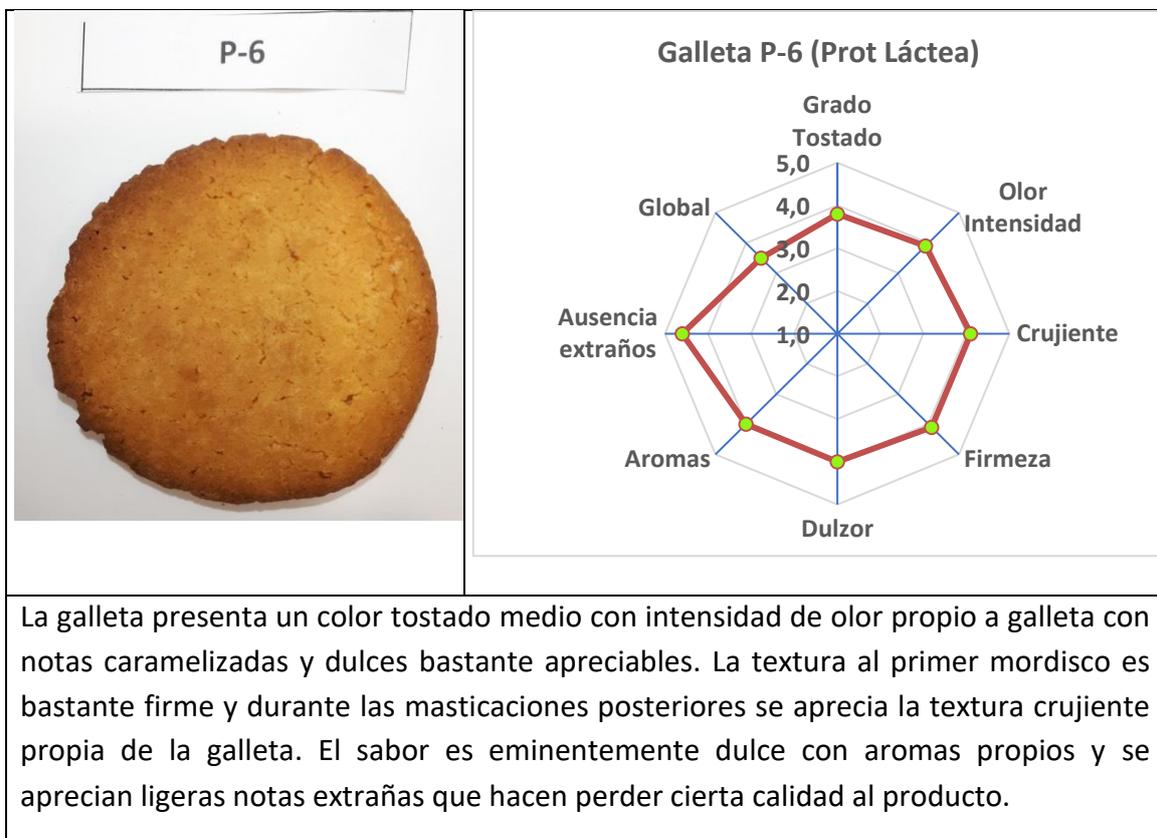
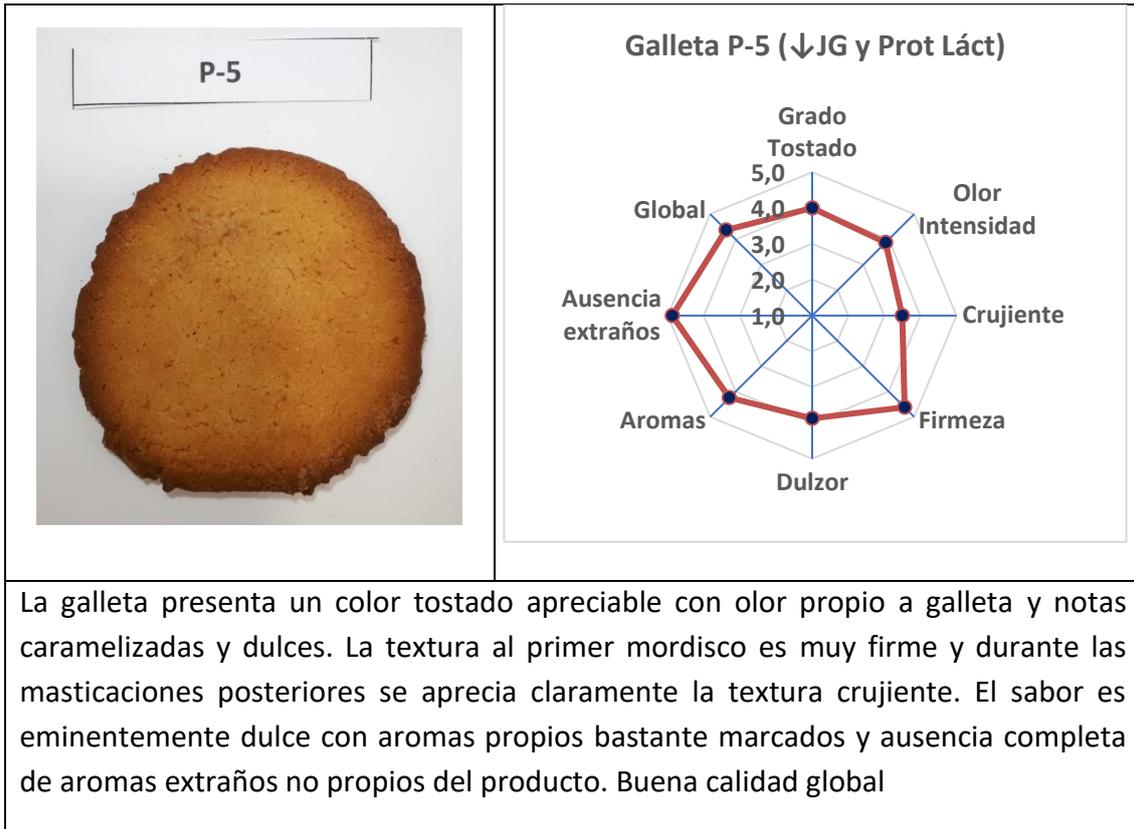
P-4

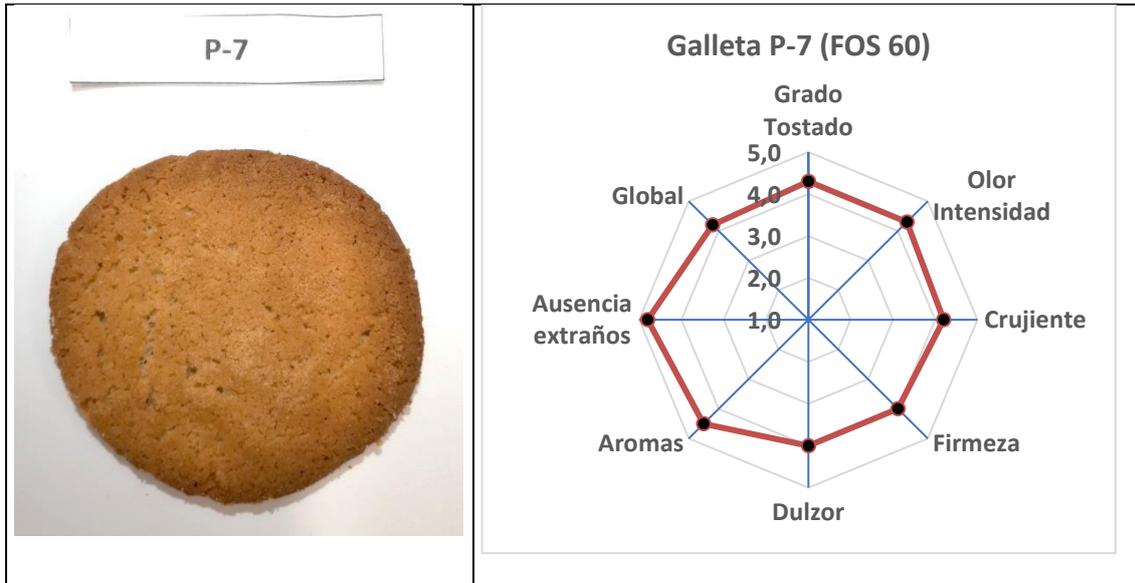


Galleta P-4 (ASPARAGINASA.)

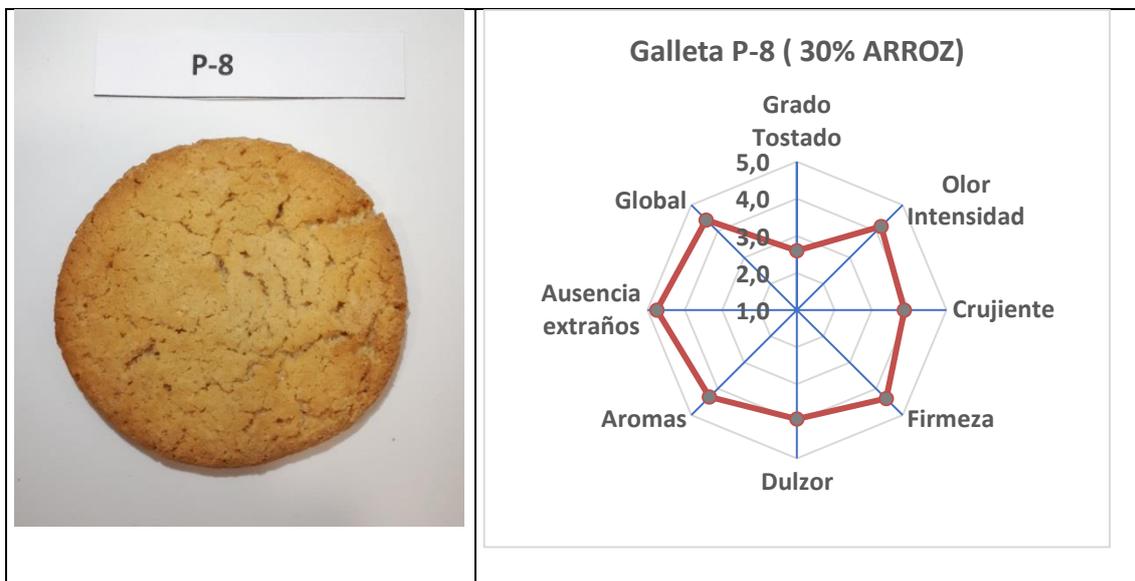


La galleta presenta un color tostado dorado con olor propio a galleta con notas caramelizadas y dulces. La textura al primer mordisco es bastante firme y durante las masticaciones posteriores se aprecia la textura crujiente de la galleta. El sabor es dulce con aromas propios de buena intensidad y ausencia completa de aromas extraños no propios del producto. Buena calidad global

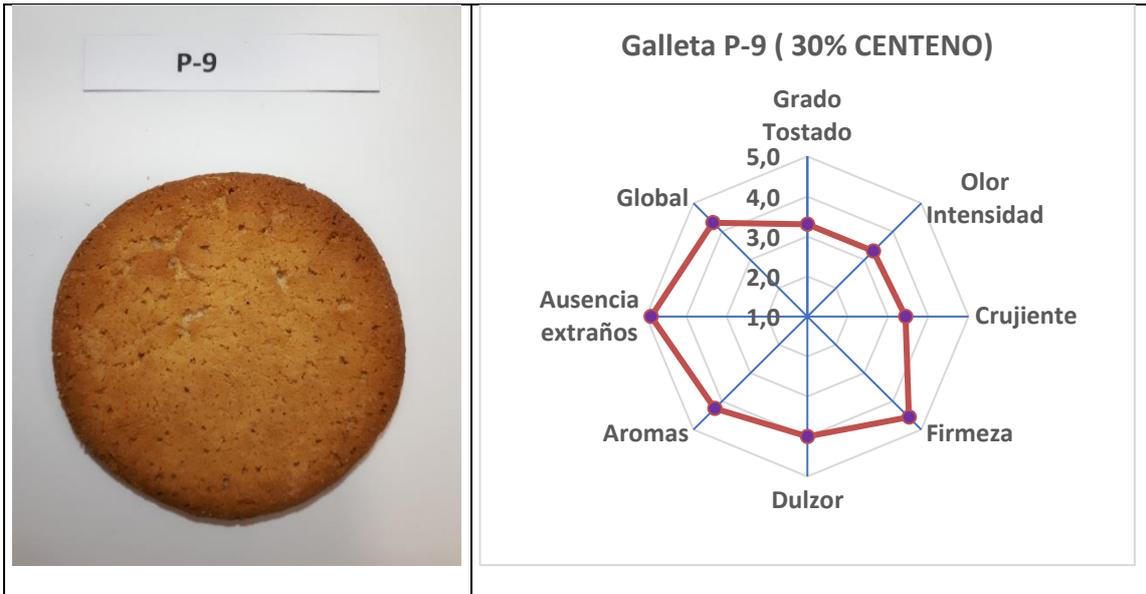




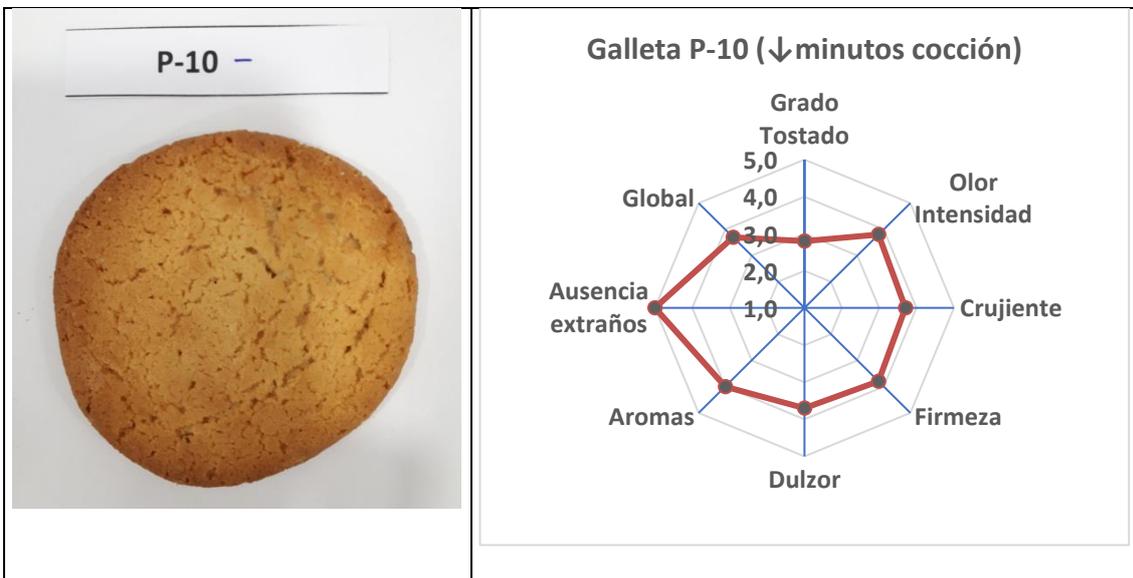
La galleta presenta un color tostado bastante apreciable con olor propio a galleta destacando notas caramelizadas y dulces. La textura al primer mordisco es bastante firme y durante las masticaciones posteriores se aprecia claramente la textura crujiente. El sabor dulce predomina en boca y los aromas retronasales son los propios con ausencia completa de aromas extraños. Calidad global elevada



La galleta presenta un color tostado muy suave, con olor de buena intensidad a galleta destacando notas dulces. La textura al primer mordisco es firme y durante las masticaciones posteriores se aprecia la textura crujiente y granulosa. El sabor es bastante dulce con aromas propios a galleta y ausencia completa de aromas extraños no propios del producto. Buena calidad global



La galleta presenta un color tostado apreciable con olor propio a galleta con notas caramelizadas y dulces. La textura al primer mordisco es firme y durante las masticaciones posteriores se aprecia una textura crujiente no muy excesiva. El sabor es bastante dulce con aromas propios bastante intensos y ausencia completa de aromas extraños no propios del producto. Buena calidad global



La galleta presenta un color tostado suave con olor propio a galleta con notas de media intensidad caramelizadas y dulces. La textura al primer mordisco es firme y durante las masticaciones posteriores se aprecia claramente la textura crujiente. El sabor es eminentemente dulce con aromas propios y ausencia completa de aromas extraños no propios del producto. Aceptable calidad global

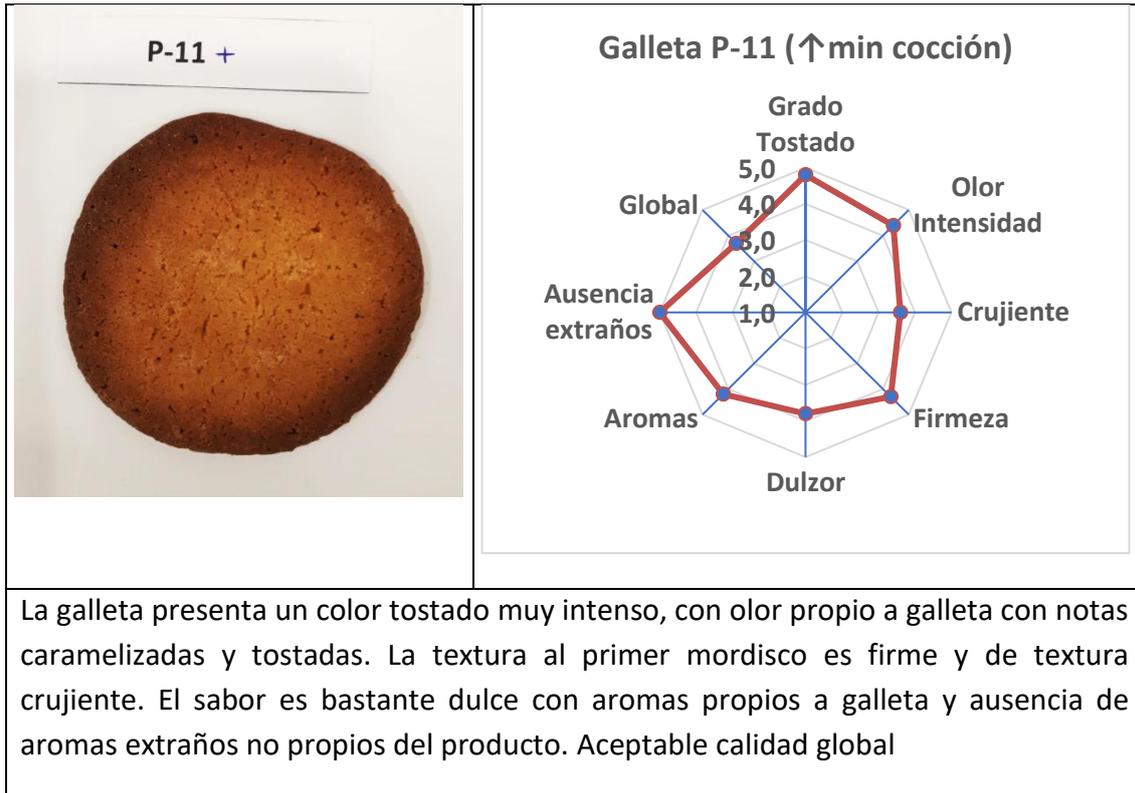


Figura 5. Escala de color de la galleta patrón con muestras más y menos cocidas.

A continuación, se muestran las valoraciones sensoriales simultáneamente donde pueden apreciarse que sólo existen diferencias sensoriales estadísticamente significativas en la intensidad de olor y la frescura de la miga, siendo mejor valorados los panes elaborados con harina más fuerte:



| PRUEBA | COD. | GRADO TOSTADO | OLOR INTENSIDAD | CRUJIENTE | FIRMEZA | DULZOR | AROMAS | AUSENCIA EXTRAÑOS | GLOBAL |
|---------------|--------|-------------------|-------------------|------------|------------|------------|------------|-------------------|-------------------|
| PATRÓN | PATRÓN | 3,7 ^{cd} | 4,3 ^b | 3,8 | 4,1 | 3,8 | 4,3 | 5,0 | 4,6 ^c |
| P1 | ↓BA | 4,0 ^{de} | 4,1 ^b | 3,9 | 4,5 | 4,1 | 4,3 | 5,0 | 4,4 ^c |
| P3 | ↓JG.JM | 4,5 ^{ef} | 4,5 ^b | 4,6 | 4,4 | 4,0 | 4,6 | 5,0 | 4,5 ^c |
| P4 | ASP. | 4,0 ^{de} | 3,9 ^{ab} | 3,4 | 4,4 | 3,8 | 4,2 | 4,9 | 4,5 ^c |
| P5 | ↓JG.PL | 4,0 ^{de} | 3,9 ^{ab} | 3,5 | 4,6 | 3,9 | 4,3 | 4,9 | 4,4 ^c |
| P6 | PL | 3,8 ^d | 3,9 ^{ab} | 4,1 | 4,1 | 4,0 | 4,0 | 4,6 | 3,5 ^a |
| P7 | FOS | 4,3 ^{ef} | 4,3 ^b | 4,2 | 4,0 | 4,0 | 4,5 | 4,8 | 4,2 ^{bc} |
| P8 | ARROZ | 2,6 ^a | 4,2 ^b | 3,9 | 4,4 | 3,9 | 4,3 | 4,8 | 4,4 ^c |
| P9 | CENT. | 3,4 ^{bc} | 3,3 ^a | 3,6 | 4,6 | 4,0 | 4,3 | 4,9 | 4,3 ^c |
| P10 | ↓min | 2,8 ^{ab} | 3,8 ^{ab} | 3,7 | 3,8 | 3,7 | 4,0 | 5,0 | 3,7 ^{ab} |
| P11 | ↑min | 4,8 ^f | 4,4 ^b | 3,6 | 4,3 | 3,8 | 4,2 | 5,0 | 3,7 ^{ab} |
| ANOVA* | | DS | DS | NDS | NDS | NDS | NDS | NDS | DS |

Tabla 8. Valoraciones sensoriales de las galletas. *ANOVA:NDS: diferencias estadísticamente no significativas ($p>0,05$); DS: diferencias estadísticamente significativas entre muestras ($p<0,05$).

Las muestras con mayor grado de tostado son el patrón muy cocida (P11) y la P3 con jarabe de malta. Las muestras menos tostadas son la P8, con harina de arroz, y el patrón poco cocido (P10). El resto de las muestras tienen valores similares del grado de tostado. Excepto la muestra P6 y los patrones poco y muy cocido el resto de las muestras de galletas presentan una calidad global muy similar con valores en todos esos casos superiores a la puntuación 4.

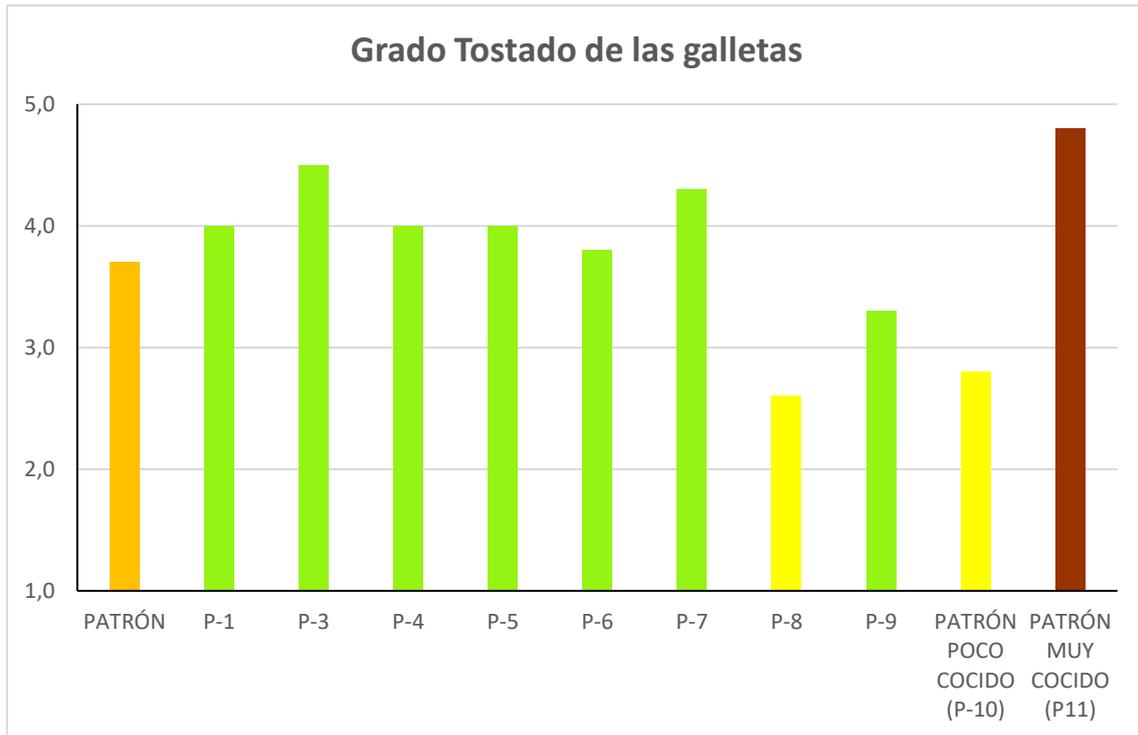


Figura 6. Valoraciones sensoriales del grado de tostado de las galletas.

Debido a la relación del nivel de acrilamida con el color, cabe de esperar que las muestras con valores de grado de tostado más altos sean los que presenten un nivel de acrilamida superior, pero este hecho hay que contrastarlo con los resultados analíticos de acrilamida de las galletas que en breve se conocerán.



FASE 3: Desarrollo de procedimientos (ingredientes y procesos) que reduzcan la formación de acrilamida en pastelería.

La acrilamida en los productos de panadería se ve especialmente afectada por el contenido de humedad del producto y por su **actividad de agua**. La acrilamida se forma cuando la actividad del agua se reduce por debajo de 0,8. La máxima formación de acrilamida ocurre cuando la a_w es de aproximadamente 0,4. Una mayor reducción de la actividad del agua tiende a disminuir la cantidad de acrilamida (Stadler et al. 2002; Mottram et al. 2002; Brathen y Knutsen 2005).

En cuanto a la **humedad**, en general los mayores valores de acrilamida se alcanzan para humedades de producto inferiores al 5%. Taeymans et al. (2004) evaluaron la formación de acrilamida en relación con la temperatura y el contenido de humedad en galletas. Con un 10% de humedad de las piezas, no se observó acrilamida en las muestras horneadas a 120, 160 y 200 ° C. En cambio, con un 6% de humedad, la acrilamida se detectó a 160 y 200 ° C, pero en cantidades moderadas. En valores de humedad del 2%, la acrilamida varió de 165 a 363 $\mu\text{g} / \text{kg}$, dependiendo de las condiciones de horneado, aunque se mantuvo en contenidos más bajos nuevamente. Ahrné et al. (2007) estudiaron el efecto de la temperatura de la corteza y el contenido de agua en la formación de acrilamida durante la cocción de pan de molde, concluyendo observaciones similares a las anteriores. Las concentraciones de acrilamida aumentaron cuando el contenido de agua disminuyó hasta 4%, lo que estuvo relacionado con el aumento en la temperatura. Menores contenidos de agua (de 4 a 2%) redujeron la concentración de acrilamida, alcanzando la concentración más baja de acrilamida en la corteza con un contenido de agua de 2.7%.

Por otro lado, cabe indicar que las **dimensiones** del producto de panadería son otro factor que afecta en la formación de la acrilamida. Según Açar y Gökmen (2009), el espesor del producto es un parámetro importante que determina la velocidad de secado y, en consecuencia, la tasa de formación de acrilamida durante la cocción. Por



ejemplo, en masa con un espesor de 1 mm, la concentración de acrilamida aumentó rápidamente a 180 ° C, alcanzando un máximo aparente de 411 µg / kg dentro del tiempo de horneado de 8 min. Por el contrario, no se detectó acrilamida en masas cuyo espesor fue de 10 mm dentro de los 15 minutos de calentamiento en las mismas condiciones de cocción, porque el contenido de humedad estaba por encima del 10%. Después de este tiempo, en el último caso la concentración de acrilamida tendió a aumentar linealmente, alcanzando un valor de 217 µg / kg después de 30 minutos de calentamiento.

En el caso de bizcochos, las investigaciones realizadas no son tan detalladas como en pan o galletas. Taeymans et al. (2004) informaron que en bizcochos a lo largo del tiempo de cocción se observa una disminución de la humedad y comienza a incrementarse el contenido de acrilamida. Este efecto se debe en gran medida a que los contenidos de humedad descienden significativamente. La acrilamida alcanza su nivel máximo tras 30 minutos de cocción y posteriormente comienza a disminuir, posiblemente debido a reacciones secundarias entre la acrilamida y otros componentes del alimento, o a la evaporación de la acrilamida de la superficie de los bizcochos. Sería de gran interés esclarecer la importancia tanto del formato como de la presencia de grasa en este tipo de productos, y las fórmulas seleccionadas para su estudio de los contenidos de acrilamida. Habitualmente se trabaja con bizcochos densos, con incorporación de grasa. Sin embargo, la proporción de miga referida al peso total de muestra es muy elevada. Al igual que ocurre en los panes, la temperatura de la miga no logra alcanzar temperaturas que constituyan un riesgo en formación de acrilamida. En cambio, los bizcochos más ligeros, denominados bizcochos plancha, que son los empleados en la elaboración de tartas y no contienen grasa, tienen un formato mucho más plano y por tanto una proporción de miga menor y mayor de corteza.

Cabe esperar que su contenido en acrilamida sea mayor, por lo que se recomienda profundizar en este aspecto.



FASE 3.1. Pruebas preliminares (bizcochos)

Se ha analizado una muestra de bizcocho plancha (por ser el que presentaba menor miga y ser el más seco de entre los elaborados) en condiciones estándar para ver de qué nivel de acrilamida se partía, siendo los resultados obtenidos los siguientes:

| CODIGO | DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA BIZCOCHO PLANCHA | Nivel de acrilamida detectado |
|--------|---|----------------------------------|
| M1 | Muestra elaborada con una fórmula básica ligera (batido más ligero) | < 50µg/kg |

Tabla 9. Contenido de acrilamida en bizcocho plancha.

Los resultados obtenidos nos indican que la fórmula y el bizcocho elaborado no contienen niveles de acrilamida significativos como para aplicar medidas de mitigación.

Por lo que se trabajará sobre otra matriz pastelera que pudiese tener niveles superiores como pastas o rosquillas.

Al tratarse la pasta de un producto muy similar a las galletas se decidió apostar por un producto de pastelería frito como son las rosquillas, a priori con características más idóneas para presentar acrilamida.

FASE 3.2. Rosquillas fritas

Las rosquillas se tratan de un producto de pastelería elaborado tradicionalmente tanto en Castilla y León y como en otros lugares de la geografía española. Es un producto cuyo origen no está definido, pero con un gran arraigo a nuestra comunidad. Su forma más común es redondeada en forma de 0, aunque existen multitud de formas y tamaños.

Inicialmente se analizaron unas muestras de rosquillas fritas, para valorar si el estudio de mitigación de acrilamida es relevante en esta matriz, resultando lo siguiente:



| CODIGO | DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA ROSQUILLAS FRITAS | Nivel de acrilamida detectado | Humedad % |
|--------|--|----------------------------------|--------------|
| M1 | Rosquilla frita (formulación tipo) | 87±21µg/kg | 7.4 |

Tabla 13. Contenido de acrilamida en rosquillas fritas en aceite de girasol.

Esta matriz resulta más interesante para su estudio que el bizcocho, aunque los niveles tampoco son demasiado altos. Se procede a realizar una modificación de la fórmula tipo para hacer un tipo de rosquilla más seca con mayor riesgo de producción de acrilamida.

Al tratarse de un **producto frito**, el tipo de aceite utilizado, así como su grado de **oxidación**, también ejercería una gran influencia en la formación de acrilamida (Ospina et al., 2014). Algunos grupos de investigación se encuentran trabajando sobre la relación entre la degradación del aceite durante la fritura y la formación de compuestos tóxicos precursores de la acrilamida. En concreto, durante el proceso de fritura de un aceite, los triglicéridos se hidrolizan y en monoglicéridos, diglicéridos y glicerol. Este último se deshidrata a acroleína que puede oxidarse a ácido acrílico, y que finalmente puede reaccionar con el amoníaco para formar acrilamida, independientemente de la presencia de asparagina (Mesías et al., 2019).

Por otro lado, el aceite sufre otra serie de reacciones de degradación cuando es calentado en presencia de oxígeno, como es la oxidación. Esta reacción da lugar a la formación de unos compuestos denominados hidroperóxidos que, con el paso del tiempo y los sucesivos usos del aceite, sufren un proceso de degradación dando lugar a la formación de radicales libres que originan polímeros oxidables, responsables del sabor rancio, y que hacen que los aceites de fritura pierdan calidad y ganen toxicidad (Juárez, D.M. y Sammán, N., 2007).

Los hidroperóxidos procedentes del proceso oxidativo del aceite pueden descomponerse en productos volátiles que se eliminan mediante el proceso de fritura y en compuestos no volátiles que se van acumulando en el aceite a medida que avanza



la fritura y se incorporan al alimento. Estos últimos se denominan **compuestos polares (CP)**. Los CP son un indicativo del deterioro alcanzado por un aceite durante la fritura y pueden ser determinados de una manera sencilla, por lo que de una manera indirecta se puede predecir la formación de acroleína y por lo tanto, la presencia de acrilamida en un alimento. Además, la formación de estos compuestos afecta a la consistencia, sabor, aroma de las grasas y a la calidad de la fritura. Recientemente un estudio de la OCU (2017) muestra la relación de CP con la degradación de los aceites más empleados en fritura de distintos alimentos como son patatas fritas, croquetas, san jacobos, sardinas y boquerones, entre otros. De acuerdo a sus resultados, el aceite de girasol se presenta como el más degradado, con valores de CP superiores a 25%, una vez alcanzadas las 35 frituras. Le siguen el orujo de oliva y el aceite de oliva. En cambio, en el extremo contrario se situaría el aceite de girasol alto oleico, con una tolerancia a la fritura significativamente mayor que muchos de los aceites habitualmente empleados en estos procesos.

En el BOE 1989/2265, donde se aprueba la norma de calidad para los aceites y grasas calentadas, se establecen limitaciones en la presencia de CP en los aceites de fritura, de modo que el contenido en componentes polares debe ser inferior al 25%, determinado a través de cromatografía gaseosa (Juárez, D.M. y Sammán, N., 2007; Mesías et al., 2019). No obstante, Mesías et al. (2018) no encontraron correlación entre los niveles de CP presentes en aceite de 10 operadores distintos procedentes de la fritura de patatas con los niveles de acrilamida presentes, sino que dichos niveles se relacionaban directamente con la presencia de azúcares reductores.

Dado que los datos aún no están claros, surge la necesidad de estudiar la posibilidad de que existan nuevas vías de formación de acrilamida y poder aplicar métodos de mitigación por los operadores industriales para reducir los niveles de acrilamida en productos fritos.

Por lo tanto, para esta fase se decide seleccionar como matriz de estudio a rosquillas fritas en aceite de girasol. Se pretende averiguar si la modificación en la fórmula en cuanto a empleo de harinas de diferentes cereales, el empleo de la enzima asparaginasa, la reducción y sustitución de azúcar, así como la modificación de las



condiciones de tiempo y temperatura en el proceso de fritura y la formación de compuestos polares por degradación del aceite, van a ser factores que favorezcan o no la aparición de acrilamida en dichos productos.

Por lo tanto, el estudio de productos de pastelería queda distribuido del siguiente modo:

- **Estudiar en fase práctica qué ingredientes son eficaces en la reducción de acrilamida para rosquillas fritas (sustitución de azúcares, enzimas hidrolíticas, tipos de harinas utilizados, etc).**
- **Estudiar los parámetros del proceso de fritura en la elaboración de las rosquillas que afectan en mayor o menor medida a la producción de la acrilamida (tiempos y temperaturas, degradación de aceite de fritura).** Se pretende conocer también si existe correlación entre el color, la cantidad de compuestos polares presentes en el aceite y la formación de acrilamida en rosquillas fritas.

Los análisis necesarios de acrilamida dentro de esta fase han sido realizados por Itacyl.

El estudio se inicia a partir de una fórmula tipo seleccionada de rosquillas fritas y se fijan unas condiciones de proceso de fritura estándar. En la siguiente tabla se indican los ingredientes propios de la rosquillas:

| INGREDIENTES |
|-------------------|
| HARINA DE TRIGO |
| AZÚCAR |
| HUEVOS |
| ACEITE DE GIRASOL |
| GASIFICANTE |

Tabla 4 .Ingredientes de rosquillas fritas.

A continuación, se presentan las alternativas consideradas en este apartado para la elaboración de rosquillas:



| CODIGO | DESCRIPCIÓN DE LA PRUEBA |
|-----------|---|
| P1-PATRÓN | Rosquilla frita elaborada de acuerdo a una fórmula tipo (180º-4min) |
| P2 | Fórmula sustituyendo la harina de trigo por harina de centeno. |
| P3 | Fórmula sustituyendo la harina de trigo por harina de arroz. |
| P4 | Fórmula patrón frita en aceite con número intermedio de frituras (16) |
| P5 | Fórmula sustituyendo la harina de trigo por harina de avena. |
| P6 | Fórmula reduciendo un 30% el azúcar. |
| P7 | Fórmula sustituyendo un 50% del azúcar por un 50% de maltitol. |
| P8 | Fórmula patrón con fritura a alta temperatura (190º-2minutos). |
| P9 | Fórmula patrón con fritura a baja temperatura (170º-7 min). |
| P11 | Fórmula patrón con fritura de menos tiempo (180º-3min) |
| P12 | Fórmula patrón con fritura de más tiempo (180º-5min) |
| P13 | Fórmula patrón frita en aceite con alto número de frituras (34) |

Tabla 51 . Alternativas a estudiar en la elaboración de rosquillas fritas.

A continuación, se presentan las diferentes fórmulas aplicadas en cada prueba:

PROCESO DE ELABORACIÓN

Para cada prueba se realizó un Test de proceso en donde se fijan las condiciones de elaboración y procesado y donde se controlan los parámetros más influyentes en el proceso de elaboración; como son la temperatura del aceite y el tiempo de fritura.

| PROCESO DE ELABORACIÓN |
|---|
| Batido: 2 minutos |
| Amasado: 2 minutos |
| Cortado. |
| Fritura: Temperatura: 180ºC/variable. Tiempo: 8 minutos/lado/variable. |

Tabla 12. Parámetros tipo empleados en el proceso de elaboración de rosquillas fritas.



Figura 7. Imagen de las rosquillas fritas.

A continuación, se detallan las modificaciones en proceso llevadas a cabo durante la elaboración de las rosquillas fritas:

| PRUEBA | COD. | Tª FRITURA | TIEMPO FRITURA (min) | ESTADO ACEITE GIRASOL |
|-----------|------------------|------------|----------------------|--------------------------------|
| P1-PATRÓN | PATRÓN | 180 | 8 | Óptimo (<5 frituras) |
| P2 | CENTENO | 180 | 7 (por color) | Óptimo |
| P3 | ARROZ | 180 | 8 | Óptimo |
| P4 | MED nº frituras | 180 | 8 | Uso medio (16 frituras) |
| P5 | AVENA | 180 | 8 | Óptimo |
| P6 | ↓AZ. | 180 | 8 | Óptimo |
| P7 | MALTITOL | 180 | 8 | Óptimo |
| P8 | ↑Tª | 190 | 4 | Óptimo |
| P9 | ↓Tª | 170 | 14 | Óptimo |
| P11 | ↓min | 180 | 6 | Óptimo |
| P12 | ↑min | 180 | 10 | Óptimo |
| P13 | ALTO nº frituras | 180 | 8 | Muy usado (34 frituras) |

Tabla 6. Condiciones de fritura de cada una de las rosquillas fritas.

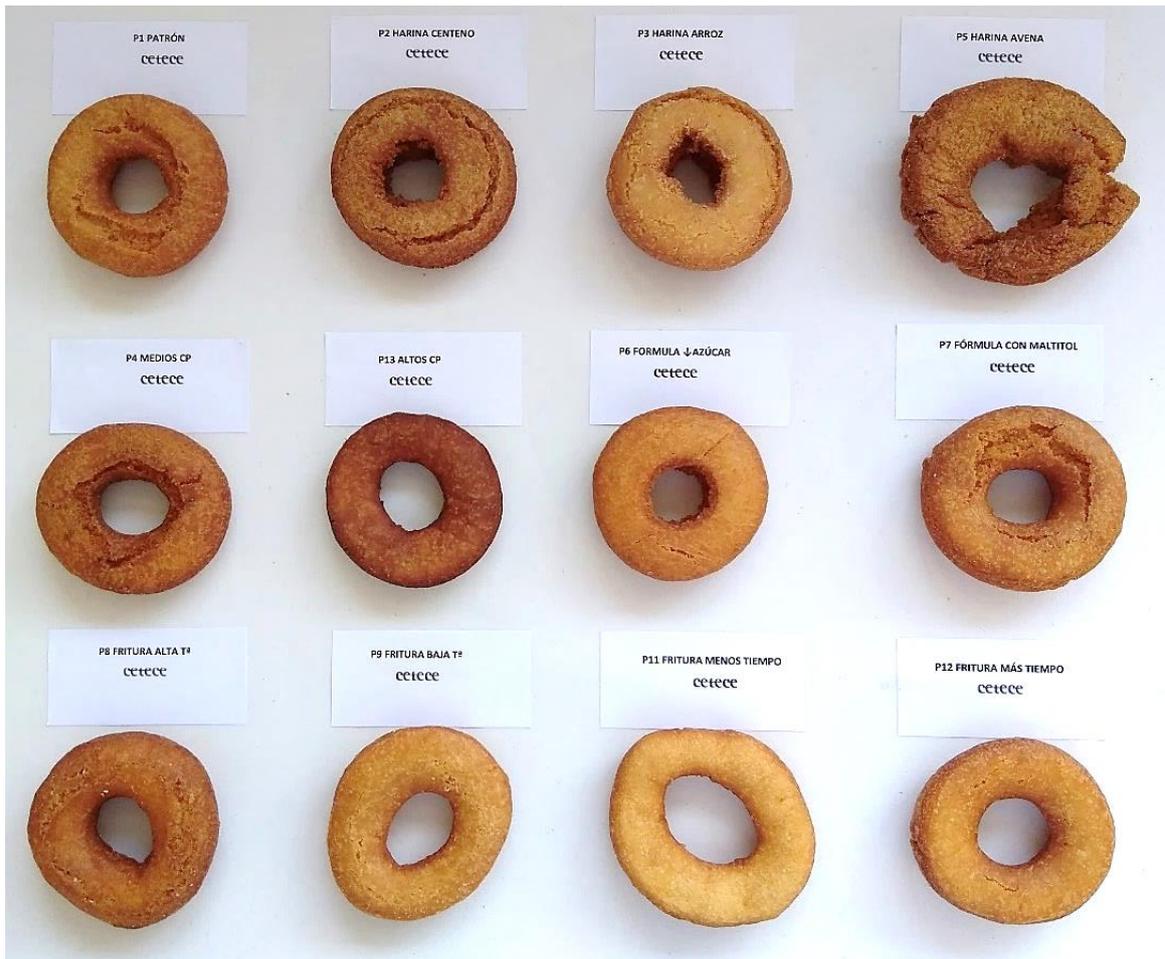


Figura 8. Imagen de todas las rosquillas fritas elaboradas.

CARACTERIZACIÓN FÍSICA

En la siguiente tabla se recogen la caracterización física de todas las pruebas de las rosquillas fritas llevadas a cabo, considerando los parámetros de mayor interés en estos productos de pastelería como son la humedad, el peso y la morfología de las piezas, su color y su textura.

Se determinó el contenido en humedad de cada una de las pruebas de rosquillas para comprobar la relación entre contenido bajo en humedad y contenido más alto de acrilamida.



| PRUEBA | COD. | HUMEDAD (%) | DIÁMETRO (cm) | ESPESOR (cm) | COLOR | | |
|-----------|------------------|-------------|---------------|--------------|-------|-------|-------|
| | | | | | L* | a* | b* |
| P1-PATRÓN | PATRÓN | 5,2 | 6,1 | 1,8 | 49,53 | 18,08 | 31,92 |
| P2 | CENTENO | 6,8 | 6,1 | 2,2 | 47,90 | 14,71 | 27,21 |
| P3 | ARROZ | 3,5 | 5,9 | 2,1 | 53,27 | 16,46 | 31,53 |
| P4 | MED nº frituras | 5,4 | 6,4 | 1,9 | 44,92 | 16,91 | 28,32 |
| P5 | AVENA | 1,8 | 6,2 | 2,0 | 51,88 | 12,37 | 28,51 |
| P6 | ↓AZ. | 6,4 | 5,8 | 1,9 | 50,88 | 18,04 | 32,70 |
| P7 | MALTITOL | 4,4 | 6,1 | 2,0 | 52,41 | 15,93 | 32,90 |
| P8 | ↑Tª | 7,3 | 6,1 | 1,9 | 50,70 | 17,40 | 33,20 |
| P9 | ↓Tª | 3,4 | 6,1 | 1,8 | 53,40 | 16,30 | 32,80 |
| P11 | ↓min | 5,9 | 6,1 | 1,7 | 54,40 | 17,00 | 34,80 |
| P12 | ↑min | 3,8 | 6,2 | 1,9 | 48,90 | 18,10 | 31,80 |
| P13 | ALTO nº frituras | 4,3 | 5,8 | 1,6 | 37,19 | 14,18 | 19,42 |

Tabla 7. Caracterización física de las rosquillas fritas.

En general las rosquillas parecen mostrar características físicas que dan cuenta de una gran homogeneidad entre todas ellas. No obstante, se llegan a percibir pequeñas diferencias en algunos de los parámetros evaluados.

Por ejemplo, destacan las pruebas P8 como las rosquillas de mayor humedad. Este efecto es debido a que ambas muestras se han frito durante un tiempo menor, por lo que el producto ha sido capaz de retener más humedad en su interior. Por el contrario, destaca la muestra P5, elaborada con harina de avena, dieron lugar a una rosquilla abierta (era una harina termotratada y afecta al gluten) por lo que se frió más por dentro y resultó como la más seca.

En cuanto a morfología, las rosquillas presentan todas ellas grandes similitudes. En relación al color, destacan las muestras P11, P9 y P3 como las rosquillas más claras y P4 como la más oscurecida. Esta última ha adquirido el color del aceite con que se ha frito.



Determinación de textura

El ensayo de textura se realizó empleando un texturómetro TAXPlus que realiza la medición por compresión de una sonda de acero inoxidable de 6mm de diámetro en el producto, registrando el valor de la dureza de la rosquilla al 25% de compresión de la altura de la misma, en g de fuerza. De tal forma que a mayor fuerza más dura será la rosquilla.

Las condiciones del ensayo de compresión fueron:

- Velocidad de preensayo: 8 mm/s
- Velocidad de ensayo: 1,7 mm/s
- Velocidad de post-ensayo: 10 mm/s
- Deformación del producto del 40%.

Se realizaron un total de 9 mediciones por fórmula, a razón de tres medidas por rosquilla. A partir de las curvas generadas se tomaron los datos de dureza media (que da cuenta de la dureza de las rosquillas).

Los resultados obtenidos se presentan a continuación:

| PRUEBA | COD. | DUREZA MEDIA (kg) |
|-----------|------------------|-------------------|
| P1-PATRÓN | PATRÓN | 1,56 |
| P2 | CENTENO | 2,15 |
| P3 | ARROZ | 1,42 |
| P4 | MED nº frituras | 2,09 |
| P5 | AVENA | 1,45 |
| P6 | ↓AZ. | 1,45 |
| P7 | MALTITOL | 2,16 |
| P8 | ↑Tª | 1,04 |
| P9 | ↓Tª | 2,42 |
| P11 | ↓min | 1,83 |
| P12 | ↑min | 1,43 |
| P13 | ALTO nº frituras | 2,39 |

Tabla 8. Resultados de textura de las rosquillas.

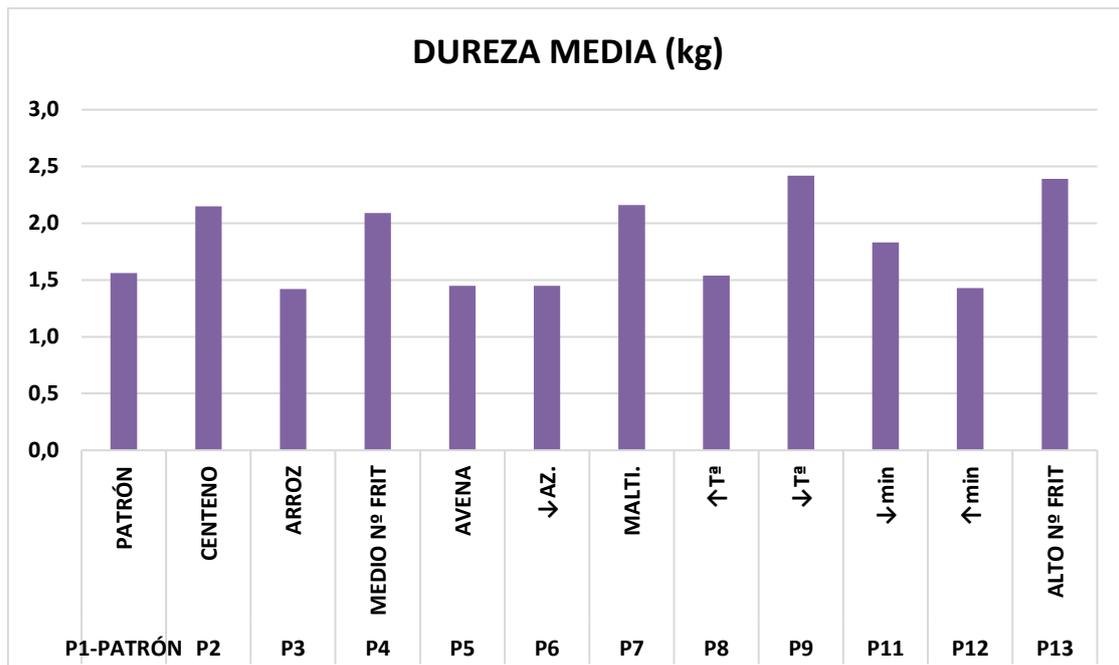


Figura 9. Gráficos de textura de las rosquillas fritas elaboradas.

La textura instrumental muestra ligeras diferencias entre rosquillas, de modo que las muestras P2, P4, P7 y P9 resultaron significativamente más firmes que el resto. En el extremo opuesto se sitúan las muestras P3 (arroz) y P5 (avena) que, si bien son muestras con humedades muy bajas, a su vez muestran una gran capacidad de absorción de aceite que da lugar a productos con una mayor ternura. No obstante, a continuación se presentará la valoración sensorial de las muestras que aporta información acerca de la percepción de textura en boca de cada una de las muestras.



DETERMINACIÓN ANALÍTICA DE ACRILAMIDA

Los resultados obtenidos de los análisis realizados en las distintas muestras de rosquillas se recogen en la siguiente tabla:

| PRUEBA | COD. | Acrilamida ($\mu\text{g}/\text{kg}$) |
|-----------|------------------|--|
| P1-PATRÓN | PATRÓN | 24 \pm 9 |
| P2 | CENTENO | 96 \pm 19 |
| P3 | ARROZ | <20 |
| P4 | MED nº frituras | 25 \pm 9 |
| P5 | AVENA | 36 \pm 10 |
| P6 | ↓AZ. | 28 \pm 9 |
| P7 | MALTITOL | 25 \pm 9 |
| P8 | ↑Tª | 25 \pm 9 |
| P9 | ↓Tª | 28 \pm 9 |
| P11 | ↓min | <20 |
| P12 | ↑min | 50 \pm 12 |
| P13 | ALTO nº frituras | 44 \pm 11 |

Tabla 9. Resultados de contenido de acrilamida de las rosquillas

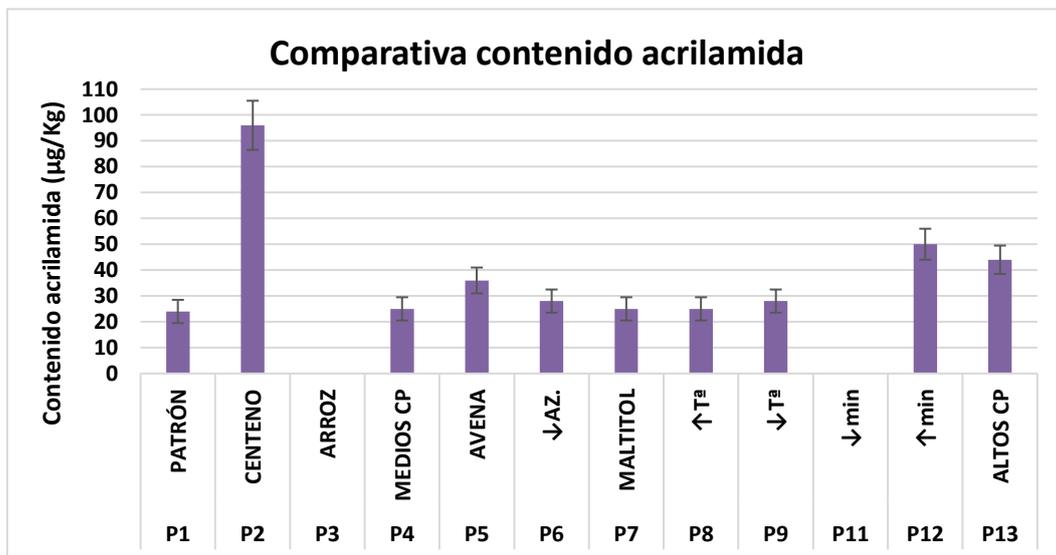


Figura 10. Comparativa del contenido en acrilamida de las rosquillas fritas.

Todos los resultados son muy bajos, muy por debajo de lo esperado, por lo que este producto a priori no supone un riesgo en su nivel de acrilamida.



CARACTERIZACIÓN SENSORIAL

De cada una de las pruebas de las rosquillas fritas se ha realizado una caracterización sensorial para la que se ha empleado una ficha de cata desarrollada para tal fin. Las rosquillas fueron valoradas por un panel de cata entrenado, considerando la valoración de cada descriptor dentro de una escala de 5 puntos de intensidad donde el 1 es la puntuación más baja mientras que el 5 es la máxima.

A continuación, se presentan los descriptores sensoriales evaluados:

- **COLOR CAMELIZADO EXTERNO:** Se realiza de manera visual. La rosquilla varía el color de dorado a dorado muy intenso.
- **COLOR OSCURECIDO INTERNO:** Se realiza de manera visual. La rosquilla puede variar su color del crema al marrón.
- **INTENSIDAD OLOR:** Por vía directa se pueden apreciar notas olfativas del producto. Se valora la intensidad del olor propio a rosquilla frita.
- **TEXTURA FIRME:** Con las manos se rompe la rosquilla y se muerde con los dientes. La textura debe ser firme no blanda ni excesivamente dura.
- **TEXTURA ADECUADA:** en boca, se valora la textura fácil de masticar, ligeramente fracturable pero con cierta consistencia
- **AMARGOR EN BOCA:** La valoración se realiza por boca del sabor amargo (parte trasera de la lengua).
- **DULZOR EN BOCA:** La valoración se realiza en boca del sabor dulce, localizado en la parte delante de la lengua.
- **INTENSIDAD DE AROMAS PROPIOS A ROSQUILLA:** Por vía retronasal valoramos la intensidad del recuerdo percibido del producto



- **INTENSIDAD DE AROMAS ACEITE (EXTRAÑOS):** Por vía retronasal valoramos la intensidad de notas que no son propias del producto. Lo correcto es que el producto tenga ausencia de aromas extraños.
- **ARMONÍA O CALIDAD GLOBAL:** Se trata de una valoración general de las características sensoriales del producto, en que se puntúa el equilibrio de todas las variables analizadas. No hay que confundir con me gusta o me disgusta.

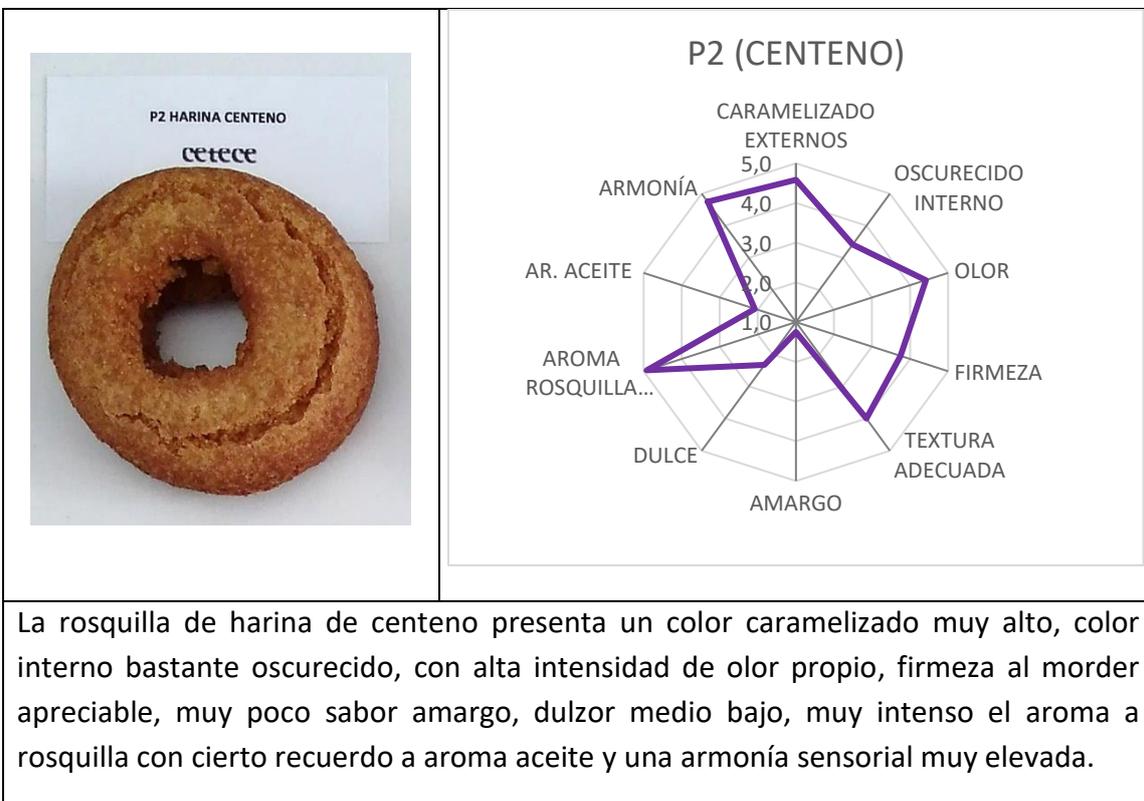
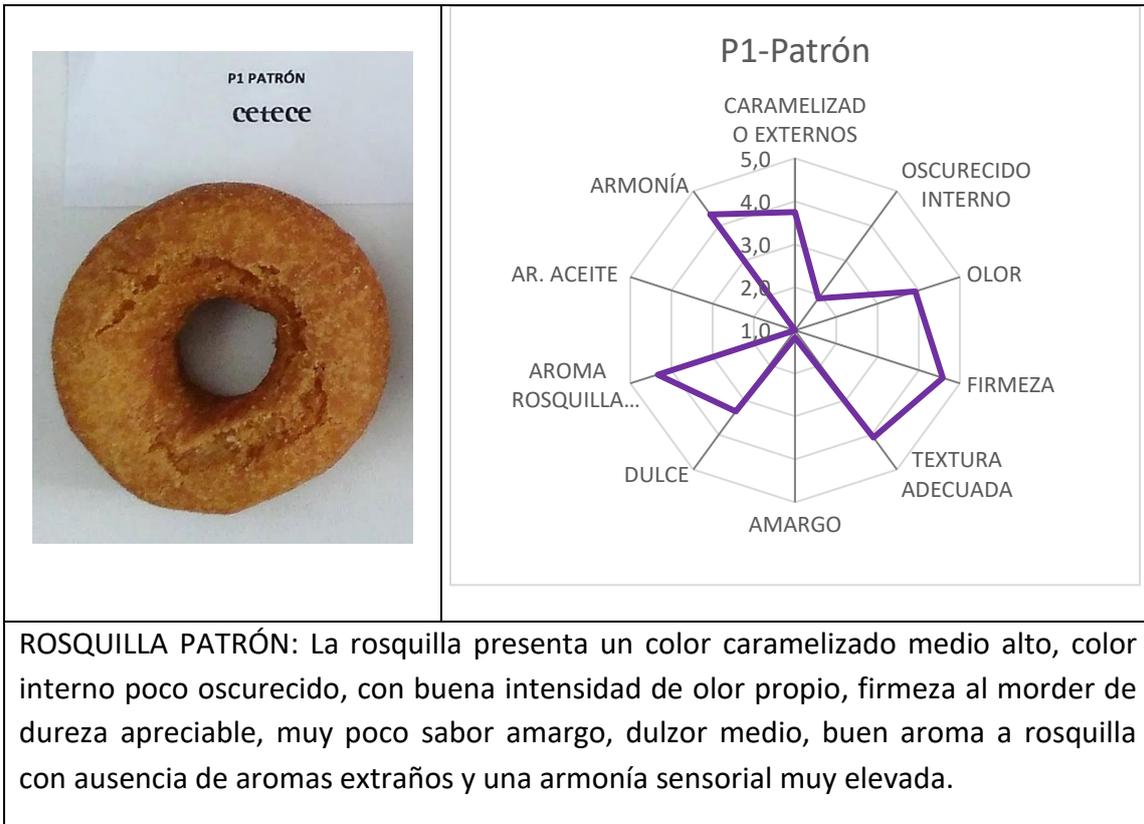
| | |
|-------------------------------------|--|
| cetece CENTRO TECNOLÓGICO | ANÁLISIS SENSORIAL ROSQUILLAS |
|-------------------------------------|--|

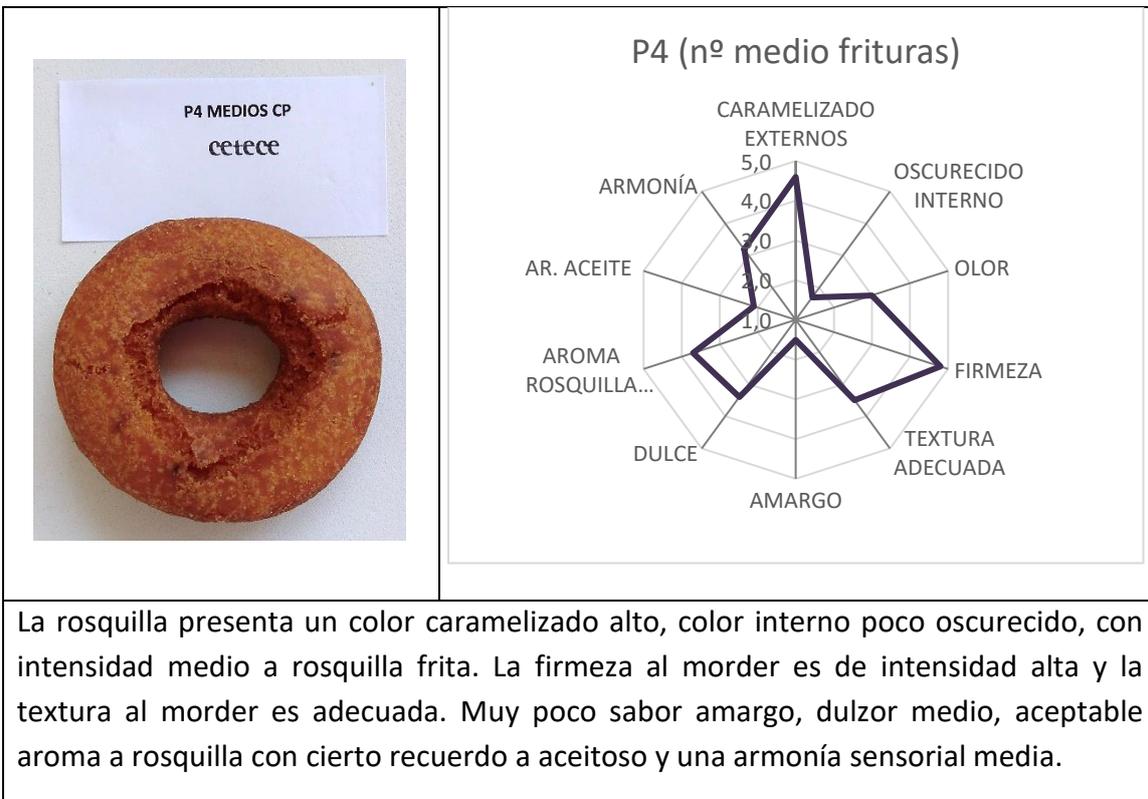
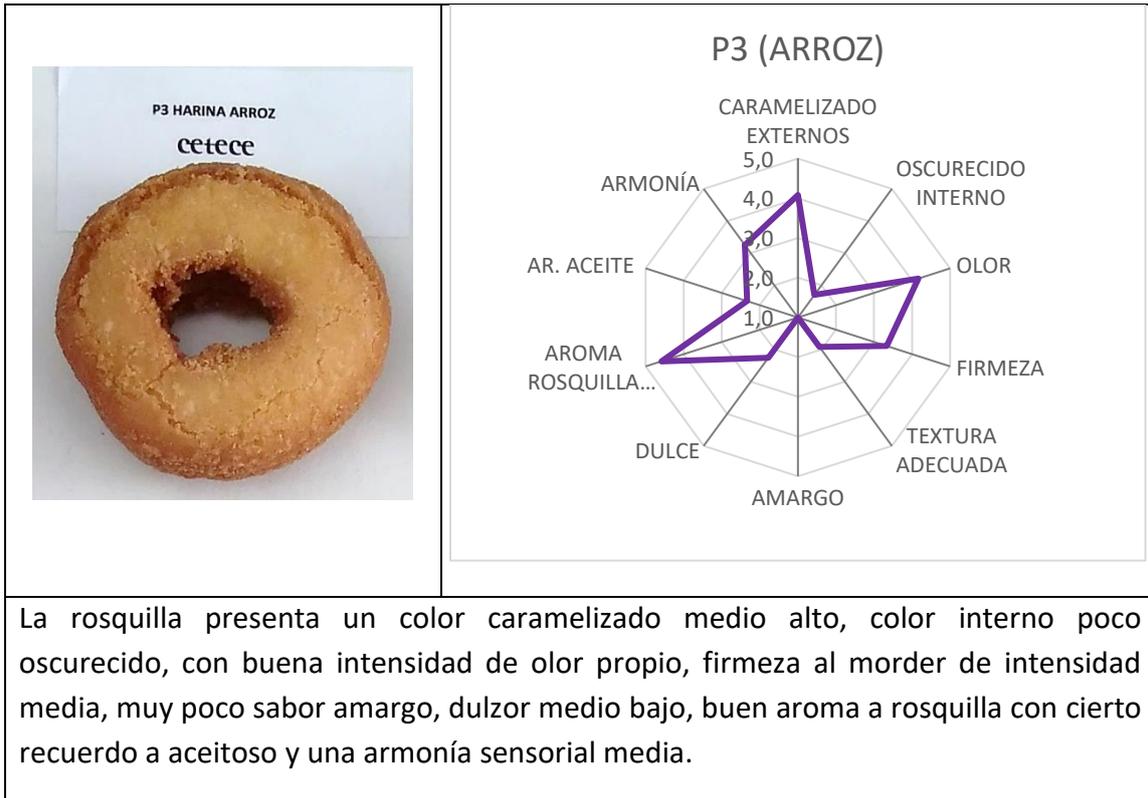
Código catador: _____ **Fecha:** _____

| DESCRIPTORES SENSORIALES | Cód. _____ |
|---|-------------------|
| 1-ASPECTO EXTERNO TOSTADO CAMELIZADO De 1 MARRÓN CREMA a 5 MUY OSCURECIDO | |
| 2-ASPECTO INTERNO OSCURECIDO De 1 CREMOSO a 5 OSCURECIDO | |
| 3-OLOR INTENSIDAD PROPIO De 1 NADA INTENSO a 5 MUY INTENSO | |
| 4-TEXTURA FIRME AL MORDER De 1 BLANDA a 5 MUY FIRME | |
| 5-TEXTURA PROPIA AL MASTICAR De 1 LIGERAMENTE ÁSPERA a 5 MUY FINA | |
| 6-SABOR AMARGO DE 1 NADA APRECIABLE a 5 INTENSO | |
| 7-SABOR DULCE DE 1 NADA APRECIABLE a 5 INTENSO | |
| 8-AROMA PROPIO INTENSIDAD De 1 NADA APRECIABLE a 5 A ROSQUILLA FRITA | |
| 8-AROMAS EXTRAÑOS A ACEITE De 1 NADA APRECIABLE a 5 APRECIABLE | |
| 9-ARMONÍA SENSORIAL (equilibrio). De 1 NADA ADECUADO a 5 MUY ADECUADO | |
| Comentarios | |

A partir de las puntuaciones obtenidas se llevó a cabo un análisis estadístico de los resultados, de acuerdo a un análisis de la varianza (ANOVA) para comprobar la existencia de diferencias significativas al 95% de confianza entre los parámetros sensoriales evaluados. Para ello se empleó el programa estadístico Statgraphics Centurión v. XVI.

A continuación, se presentan los resultados sensoriales obtenidos:

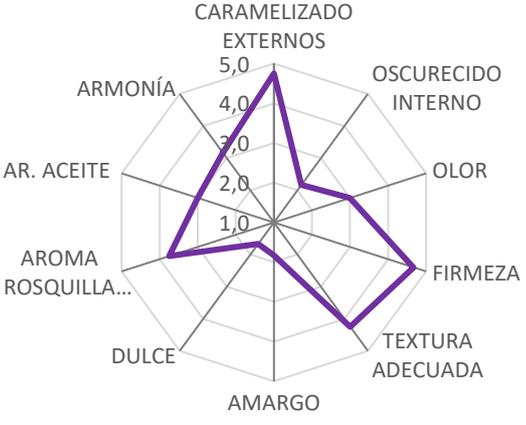






P4 HARINA AVENA

P5 (AVENA)

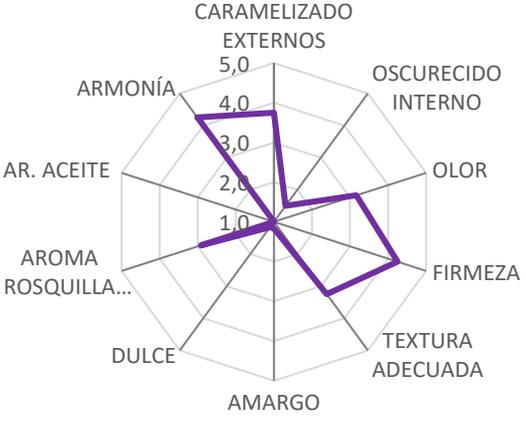


La rosquilla presenta un color caramelizado muy alto, color interno algo oscurecido, con algo de olor propio, firmeza al morder de dureza alta, ligero sabor amargo, dulzor bajo, con aceptable aroma a rosquilla y se aprecian los aromas extraños a aceite, la armonía sensorial es algo baja.

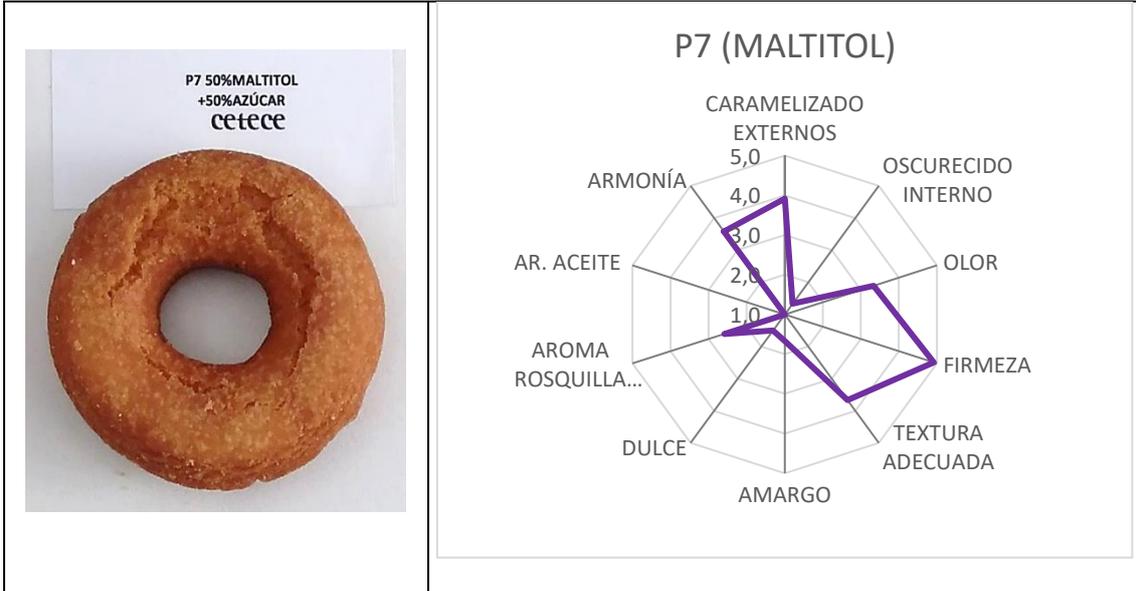


P6 CONTENIDO REDUCIDO AZÚCAR 30%
cetece

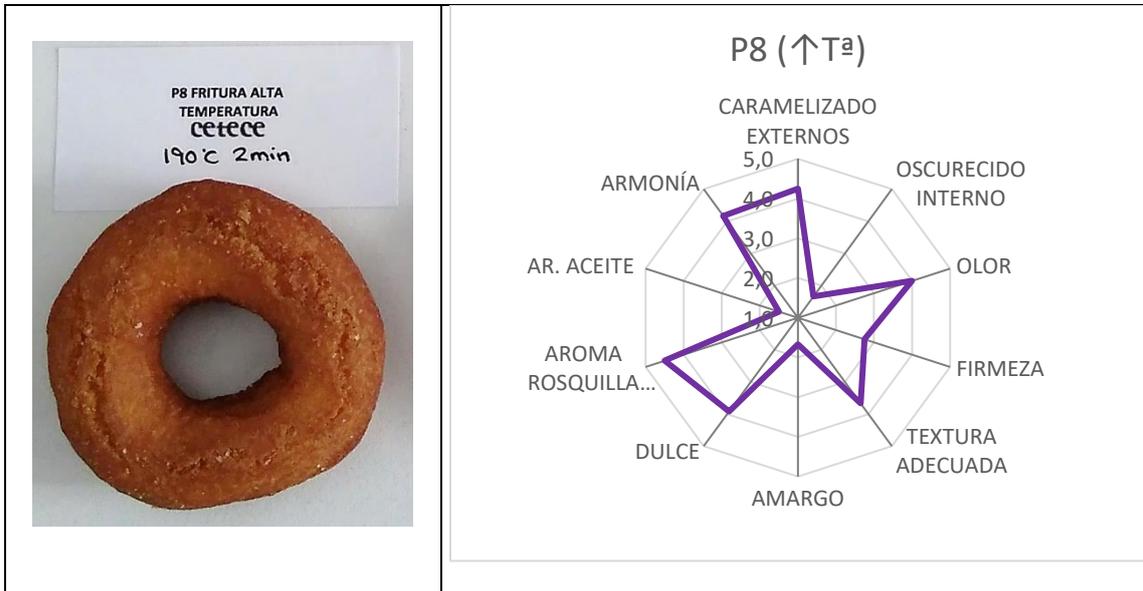
P6 (↓AZ.)



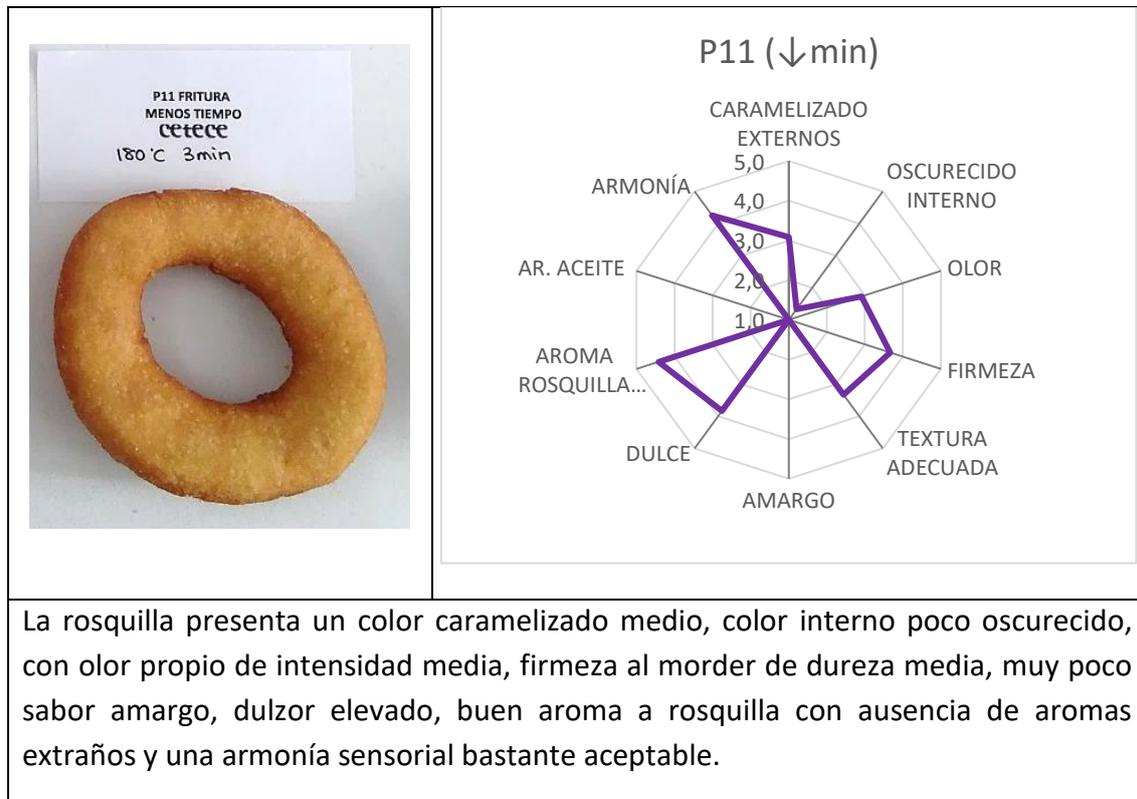
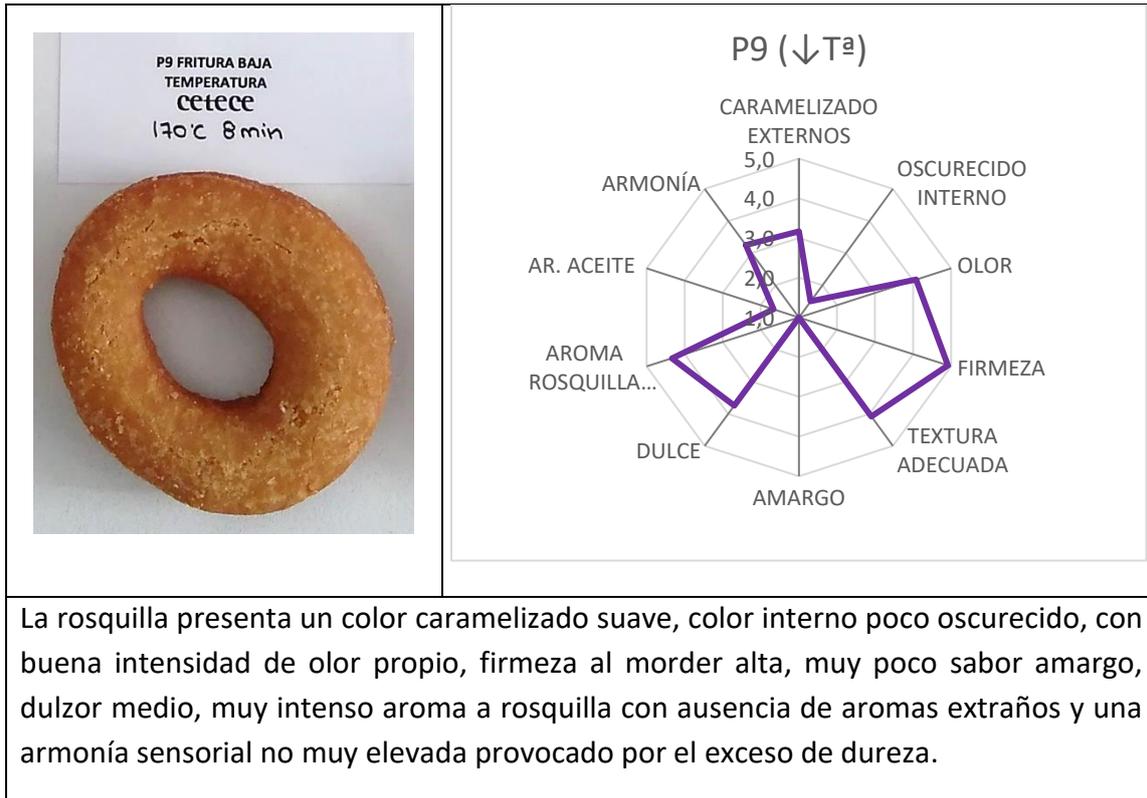
La rosquilla presenta un color caramelizado medio alto, color interno poco oscurecido, con intensidad media de olor propio. La firmeza al morder es de dureza apreciable, textura algo frágil, con muy poco sabor amargo y bajo dulce. Valoraciones del aroma a rosquilla medio bajo pero con ausencia de aromas extraños que inciden en una armonía bastante aceptable.

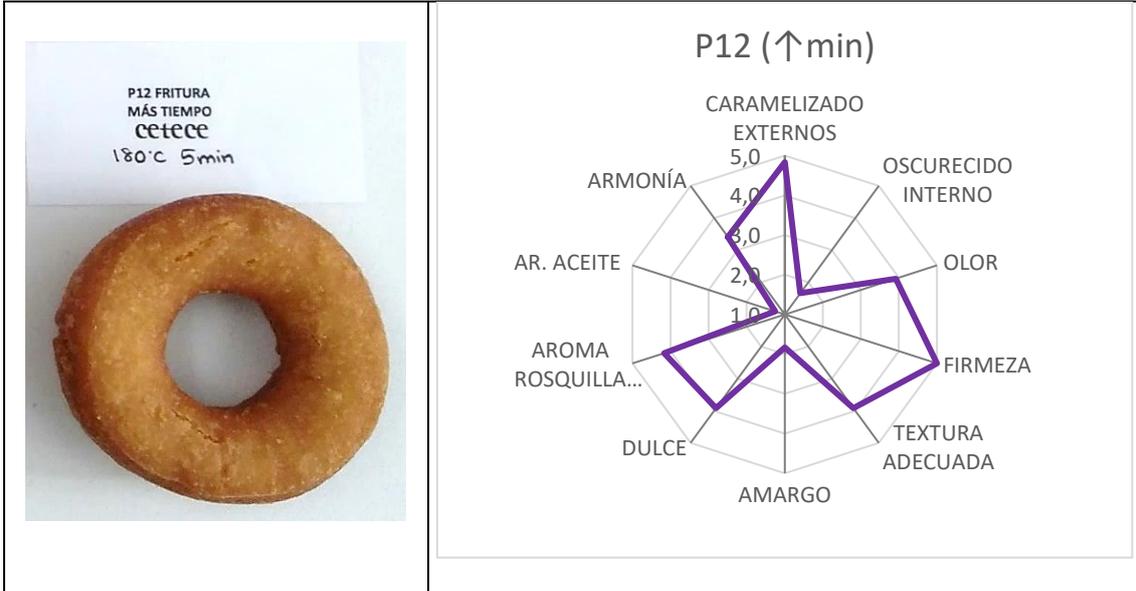


La rosquilla presenta un color caramelizado medio alto, color interno poco oscurecido, con intensidad media de olor propio. La firmeza al morder es de dureza alta y de textura algo frágil, con muy poco sabor amargo y dulce. Valoraciones del aroma ligeramente bajo pero con ausencia de aromas extraños. Armonía de media aceptabilidad.

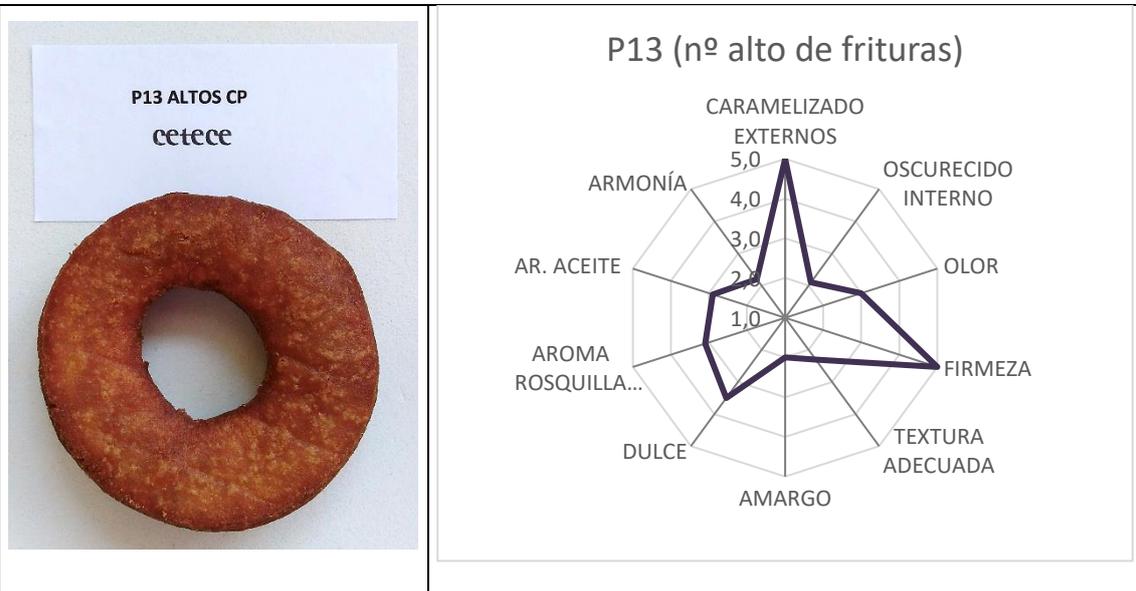


La rosquilla presenta un color caramelizado medio alto, color interno poco oscurecido, con buena intensidad de olor propio, firmeza no muy elevada, muy poco sabor amargo, dulzor medio, buen aroma a rosquilla con ausencia de aromas extraños y una armonía sensorial muy elevada.





La rosquilla presenta un color caramelizado muy alto, color interno poco oscurecido, con alta intensidad de olor propio, firmeza al morder de dureza apreciable, ciertas notas amargas, dulzor medio alto, elevado aroma a rosquilla con ausencia de aromas extraños. Armonía sensorial aceptable debido al exceso de caramelizado externo.



La rosquilla presenta un color caramelizado muy alto, color interno poco oscurecido, con intensidad medio a rosquilla frita. La firmeza al morder es alta y la textura al morder es poco adecuada. Muy poco sabor amargo, dulzor medio, medio bajo aroma a rosquilla con cierto recuerdo a aceitoso y una armonía sensorial baja.



A continuación, se muestran las valoraciones sensoriales simultáneamente donde pueden apreciarse que existen diferencias estadísticamente significativas en todos los atributos sensoriales evaluados.

| PRUEBA | COD. | CARAMELIZADO EXTERNOS | OSCURECIDO INTERNO | INT. OLOR | FIRMEZA | TEXTURA ADECUADA | AMARGO | DULCE | AROMA ROSQUILLA | AROMA ACEITE | ARMONÍA |
|---------------|------------------|-----------------------|--------------------|-----------|-----------|------------------|-----------|-----------|-----------------|--------------|-----------|
| P1 | PATRÓN | 3,8 | 1,9 | 3,9 | 4,6 | 4,1 | 1,2 | 3,3 | 4,3 | 1,0 | 4,3 |
| P2 | CENTENO | 4,6 | 3,2 | 4,4 | 3,8 | 4,0 | 1,3 | 2,3 | 4,9 | 2,1 | 4,8 |
| P3 | ARROZ | 4,1 | 1,7 | 4,2 | 3,3 | 2,0 | 1,0 | 2,3 | 4,6 | 2,3 | 3,3 |
| P4 | MED nº frituras | 4,6 | 1,7 | 3,0 | 4,8 | 3,5 | 1,5 | 3,4 | 3,7 | 2,1 | 3,2 |
| P5 | AVENA | 4,8 | 2,2 | 3,0 | 4,7 | 4,3 | 1,8 | 1,7 | 3,8 | 3,0 | 3,2 |
| P6 | ↓AZ. | 3,8 | 1,5 | 3,2 | 4,3 | 3,3 | 1,2 | 1,3 | 2,9 | 1,0 | 4,3 |
| P7 | MALTITOL | 3,9 | 1,3 | 3,3 | 4,9 | 3,7 | 1,7 | 1,5 | 2,6 | 1,0 | 3,6 |
| P8 | ↑T ^a | 4,3 | 1,7 | 4,0 | 2,8 | 3,7 | 1,7 | 3,9 | 4,5 | 1,5 | 4,2 |
| P9 | ↓T ^a | 3,2 | 1,5 | 4,1 | 4,9 | 4,1 | 1,0 | 3,8 | 4,3 | 1,7 | 3,3 |
| P11 | ↓min | 3,1 | 1,3 | 2,9 | 3,7 | 3,3 | 1,0 | 3,8 | 4,4 | 1,0 | 4,3 |
| P12 | ↑min | 4,8 | 1,7 | 3,9 | 5,0 | 3,9 | 1,8 | 3,9 | 4,2 | 1,3 | 3,4 |
| P13 | ALTO nº frituras | 5,0 | 2,1 | 3,0 | 5,0 | 2,3 | 2,0 | 3,5 | 3,1 | 2,9 | 2,2 |
| ANOVA* | | DS | DS | DS | DS | DS | DS | DS | DS | DS | DS |

Tabla 17. Valoraciones sensoriales de las rosquillas fritas. *ANOVA: NDS: diferencias estadísticamente no significativas ($p>0,05$); DS: diferencias estadísticamente significativas entre muestras ($p<0,05$).



ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA DEGRADACIÓN DEL ACEITE DE FRITURA

Para la realización del estudio se utilizó un aceite de refinado de girasol, marca Remesol con Lote 21821 091 y la fritura se llevó a cabo en freidora doméstica marca TEFAL utilizando un volumen de aceite de 2,5L.

Inicialmente el aceite de girasol, sin realizar ninguna fritura, se presenta limpio y sin impurezas, como se observa en la imagen presentada a continuación. Las frituras se realizaron introduciendo seis rosquillas por fritura a una temperatura controlada de $180 \pm 10^{\circ}\text{C}$ hasta alcanzar un tono dorado-tostado indicativo de que la rosquilla está hecha y cuando en el interior de la pieza se puede asegurar que se han alcanzado 90°C .

Una vez alcanzadas las 12 frituras a 180°C , el color del aceite ha mostrado una pequeña variación, como se observa en la figura siguiente. Se estima que un aceite puede ser utilizado hasta 35 frituras a temperaturas moderadas (T^{a} no superior a 180°C). Dado que el límite de compuestos polares marcado por legislación según el BOE 1989/2265 es de 25%, se siguió utilizando dicho aceite hasta conseguir niveles significativamente mayores de CP (indicar que dichas muestras fueron desechadas y no se utilizaron para el estudio).

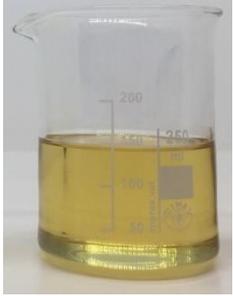
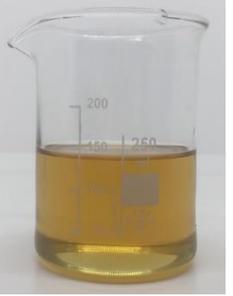
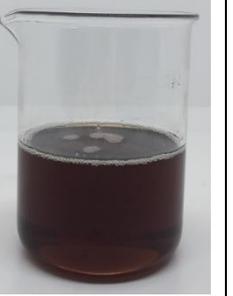
| | | | | |
|---|---|---|--|---|
|  |  |  |  |  |
| Aceite girasol sin frituras | Aceite de girasol 12 frituras a 180°C | Aceite de girasol con 16 frituras a 180°C | Aceite de girasol con 30 frituras a 180°C | Aceite de girasol con 34 frituras a 180°C |
| Nivel teórico : (3.7-9.8%) (L Manson, 1997) | | Compuestos polares medidos: 10% | | Compuestos polares medidos: 12% Repeticiones: 12 y 11 |

Figura 11. Comparativa degradación de los aceites empleados en la fritura.



Con el objetivo de asegurar contenidos significativamente mayores de compuestos polares, se realizan sucesivas frituras en las mismas condiciones de temperatura y tiempo, para valorar la influencia de la degradación del aceite en la formación de acrilamida en el producto final y si existe migración de olores y aromas al producto, o modificaciones de proceso que pudieran afectar a las rosquillas. Pero tras el análisis los % de compuestos polares fueron inferiores a lo esperado.

Por otro lado, el grado de degradación del aceite de fritura se correlaciona directamente con el color que presenta el aceite. Por ello, se realizó una medida del color de cada muestra empleando el colorímetro CN Minolta dentro del espacio de color internacional CIE Lab*. Los parámetros obtenidos son: L^* (luminosidad), a^* (variación entre verdes y rojos) y b^* (variación entre azules y amarillos). Los datos obtenidos se muestran en la tabla siguiente.

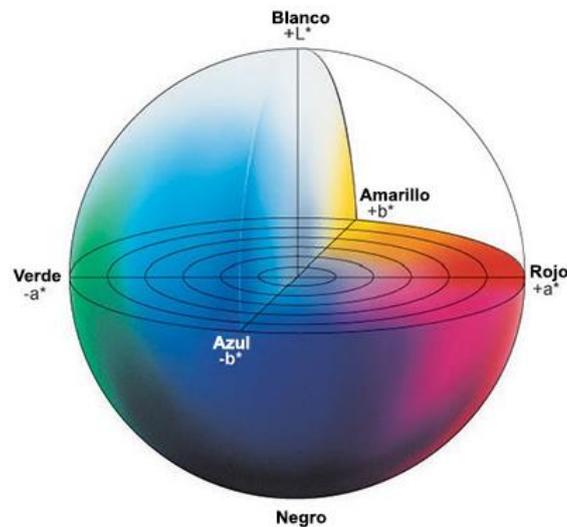


Figura 12. Diagrama cromático definido por el espacio de color CIE Lab*.



| Valores de medición | L* | a* | b* |
|--------------------------|------|-------|-------|
| Aceite Nuevo | 95,2 | -0,99 | 6,67 |
| Aceite 170°C | 94,7 | -1,14 | 7,6 |
| Aceite 180°C | 93,6 | -1,55 | 12,29 |
| Aceite 28 frituras 180°C | 92,3 | -1,54 | 12,21 |
| Aceite 30 frituras 180°C | 81,2 | 1,79 | 32,86 |
| Aceite 34 frituras 180°C | 69,8 | 8,27 | 39,21 |

Tabla 18. Colores de los aceites en función con el número de frituras.

Inicialmente el aceite de girasol, sin haber realizado ninguna fritura en él, presenta niveles de luminosidad (L*) elevados, junto con tonos amarillos muy tenues (b*) y ligeramente verdosos (a*). A medida que el aceite es utilizado y el número de frituras aumenta, el color del aceite se torna más oscuro y opaco dando lugar a valores de luminosidad más bajos y tonos amarillentos más intensos y rojizos.



FASE 4: Desarrollo de procedimientos (ingredientes y procesos) que reduzcan la formación de acrilamida en panadería.

-Estudiar en fase práctica qué ingredientes son eficaces en la reducción de acrilamida para masas de pan mediante sustitución de azúcares, enzimas hidrolíticas, empleo o no de masa madre, etc).

-Estudiar los parámetros del proceso de elaboración de masas panarias que afectan en mayor o menor medida a la producción de la acrilamida (temperaturas, humedad, etc).

Como ya se mencionó anteriormente, los contenidos de acrilamida elevados en productos de panadería se encuentran fundamentalmente en la corteza. La miga de los panes habitualmente presenta valores de acrilamida por debajo de los límites detectables. Además, la proporción miga: corteza de los productos panarios a menudo es muy elevada (9:1), lo que da cuenta de contenidos bajos en acrilamida. Por lo tanto, la importancia de esta fase IV radica especialmente en aquellos productos con menor contenido en miga y en los cuales la corteza representa un mayor % respecto al total del producto. Es por ello que se ha seleccionado un producto con poca miga, mucha corteza (o mucha superficie en contacto con el método de cocción), y a su vez un producto de baja humedad. Ejemplos de estos productos serían los picos, grisines, colines o regañás.

Las regañás se caracterizan por ser una masa de baja hidratación, que son aquellas en las cuales la cantidad de agua añadida a la masa oscila entre 40 % y 51 % en relación a la harina. Son masas de textura compacta, aspecto seco, poco extensibles y difíciles de trabajar con medios mecánicos. El pan que se obtiene con estas masas se caracteriza

por su miga blanca, alvéolos muy pequeños en la misma, consistencia firme a la vez que ligera y suave al paladar (ver figura a continuación).



Figura 13. Imagen de las regañás.

Para conseguir un pan con estas características se deben tener en cuenta una serie de factores como la temperatura de la masa, que no debe superar 22º C. Para controlar la temperatura de la masa es necesario conocer la temperatura del obrador y la amasadora que se va a utilizar. Cuanta más alta sea la velocidad de amasado, más fricción se ejercerá sobre la masa y su temperatura aumentará. Por lo tanto, se debe jugar con estos factores para conseguir la temperatura adecuada según las necesidades de proceso. El factor más fácil de manejar es la temperatura del agua. Además, en las masas con baja hidratación el tiempo de amasado es corto y es fundamental un proceso de refinado. Este refinado se conseguirá por la presión que ejerce sobre la masa dos rodillos lisos y paralelos.

Como ya se mencionaba en la introducción de la fase II (galletería), a priori se espera que la harina integral de lugar a contenidos de acrilamida mayores que las harinas refinadas.

En relación a la masa madre, ésta parece no mostrar influencia en la formación de acrilamida, aunque sí puede dar lugar a variaciones en el tiempo de fermentación de aquellas elaboraciones que la incluyen (si se incorpora sin bajar la dosis de levadura fresca utilizada en la elaboración). Indirectamente, este efecto repercute en la masa de modo que ésta presenta una capacidad fermentativa mayor y requiere un menor tiempo de fermentación que las que no contienen masa madre. Por su parte, las largas fermentaciones de productos panarios dan lugar a contenidos de acrilamida significativamente menores en el producto final.



El estudio se lleva a cabo sobre muestras de pan seco (regañás), que son piezas pequeñas de pan de forma rectangular, que se obtienen al laminar una masa de pan elaborada con harina, agua, levadura, aceite de oliva y sal suelen llevar sésamo o sal como aderezo.

Los análisis necesarios de acrilamida dentro de esta fase son realizados por Itacyl.

Los ingredientes de la fórmula tipo son los siguientes:

| Ingredientes |
|---------------------|
| HARINA 130 W PL 0,4 |
| AGUA |
| ACEITE DE OLIVA |
| LEVADURA |
| SAL |
| MEJORANTE |
| SÉSAMO |

Tabla 19. Ingredientes de las regañás.

A continuación se muestran las opciones consideradas para la elaboración de regañás:

| PRUEBAS REGAÑÁS | |
|-----------------|--|
| P1-PATRÓN | Regañá elaborada a partir de una fórmula tipo |
| P2 | Fórmula sustituyendo la harina de trigo por harina de centeno |
| P3 | Fórmula sustituyendo la harina de trigo por harina de arroz |
| P4 | Fórmula sustituyendo la harina de trigo por harina de avena |
| P5 | Fórmula elaborada con harina 100% integral |
| P6 | Fórmula patrón con cocción a alta temperatura |
| P7 | Fórmula patrón con cocción a baja temperatura |
| P8 | Fórmula con incorporación de masa madre |
| P9 | Fórmula con incorporación de vinagre |
| P10 | Fórmula patrón añadiendo enzima asparaginasa 0,15 g /Kg harina |
| P11 | Fórmula patrón añadiendo enzima asparaginasa 0,25 g/Kg harina |

Tabla 20. Alternativas a estudiar en la elaboración de regañás.



PROCESO DE ELABORACIÓN:

| PROCESO DE ELABORACIÓN |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">• Poner todos los ingredientes en la amasadora menos la levadura y amasar 2 minutos• Añadir la levadura y amasar 2 minutos más• Refinar la masa durante 3 minutos.• El tiempo de amasado y refinado es orientativo, dependerá del tipo de harina, de la amasadora, y de la cantidad de masa con que trabajemos.• Temperatura de la masa 22º C. (temperatura base 50º C)• Estirar la masa muy fina, picar abundantemente y cortar cuadrados de 4 cm de lado.• Fermentar a temperatura ambiente y hornear con vapor a 200º C /variable durante 11 minutos/variable. |

Tabla 10. Parámetros del proceso de elaboración de las regañás.

El amasado consiste en mezclar todos los ingredientes contenidos en la fórmula, de modo que una vez transcurrido un tiempo determinado se consiga elaborar una masa con unas determinadas características plásticas. Durante esta fase la masa va tomando cuerpo y adquiriendo las cualidades de elasticidad, tenacidad y extensibilidad.

Durante el amasado existe ya una pequeña fermentación. Por ese motivo, se recomienda que se añada la levadura al final del proceso, evitando así gasificaciones prematuras que provoquen masas tenaces y difíciles de trabajar.

Se considera que la masa ha alcanzado un punto óptimo de amasado cuando se despega fácilmente de la cazuela, la masa adquiere un aspecto liso y brillante y no se rompe ni presenta arrugas.

Se realizó un Test de producto donde se prestó especial atención a los parámetros más influyentes en el proceso de elaboración; Tª de los ingredientes, Control del amasado ((Tª masa, tiempo de amasado), laminado, control del horneado (Expansión, Tª cocción, tiempo de horneado).

A continuación, se presenta una imagen que detalla las distintas regañás elaboradas:



Figura 14. Imagen de las regañás elaboradas.

| PRUEBA | COD. | TIEMPO HORNEADO (min) | Tª COCCIÓN |
|--------|---------------|-----------------------|------------|
| P1 | PATRÓN | 10 | 200 |
| P2 | CENTENO | 10 | 200 |
| P3 | ARROZ | 10 | 200 |
| P4 | AVENA | 10 | 200 |
| P5 | 100% INTEGRAL | 8 | 200 |
| P6 | ↑Tª ↓ T' | 8 | 220 |
| P7 | ↓ Tª ↑ T' | 15 | 180 |
| P8 | MASA MADRE | 12 | 200 |
| P9 | VINAGRE | 12 | 200 |
| P10 | ASP. ↑ | 12 | 200 |
| P11 | ASP. ↑↑ | 12 | 200 |

Tabla 11. Ajustes de las condiciones de proceso de las regañás para conseguir colores comercialmente aceptables.



CARACTERIZACIÓN FÍSICA

Sobre este producto panario, se realizan determinaciones de los parámetros físicos considerados más relevantes, como el peso, espesor, color y textura de las muestras. La medida de color se ha realizado con ayuda del colorímetro Minolta CR-410 y dentro del espacio internacional de color CIELab*. Previamente a la medición se realizó una molienda de las muestras para poder aportar una mayor precisión en los resultados obtenidos.

El ensayo de textura se realizó empleando un texturómetro TAXPlus. Consiste en una base con un orificio central sobre la cual se coloca la muestra a medir. El ensayo de textura se realizó por penetración de una sonda de acero inoxidable de 2 mm de diámetro (P/2) en el producto, registrando la fuerza de resistencia en g. de fuerza y expresándola en términos de dureza máxima (que da cuenta de la dureza de la regañá) y el número de picos positivos, que informa acerca de la fracturabilidad o crujencia (mayor número de picos se relaciona con una mayor crujencia). Se realizaron un total de 12 mediciones por tipo, a razón de una medida por regañá.

Las condiciones del ensayo de penetración fueron:

- Velocidad de preensayo: 8 mm/s
- Velocidad de ensayo: 1 mm/s
- Velocidad de post-ensayo: 10 mm/s
- Penetración de la sonda: 10 mm.

Seguidamente se muestra la caracterización física de las regañás:



| PRUEBA | COD. | HUMEDAD (%) | PESO 10 uds. (g) | ESPESOR 10 uds. (cm) | TEXTURA | | COLOR | | |
|--------|-----------------|-------------|------------------|----------------------|--------------------|----------------------|-------|------|-------|
| | | | | | Dureza máxima (Kg) | CRUJENCIA (nº picos) | L* | a* | b* |
| P1 | PATRÓN | 1,0 | 24,30 | 4,41 | 1,97 | 52 | 70,40 | 5,89 | 27,24 |
| P2 | CENTENO | 3,1 | 21,85 | 4,70 | 1,66 | 56 | 70,34 | 5,27 | 21,92 |
| P3 | ARROZ | 3,4 | 18,86 | 2,90 | 1,30 | 41 | 71,53 | 5,25 | 21,89 |
| P4 | AVENA | 2,0 | 17,30 | 3,20 | 1,36 | 36 | 66,38 | 6,06 | 23,97 |
| P5 | 100% INTEGRAL | 3,5 | 25,73 | 5,25 | 1,83 | 40 | 64,39 | 6,14 | 18,97 |
| P6 | ↑T ^a | 1,1 | 20,41 | 3,90 | 1,60 | 48 | 67,66 | 6,89 | 26,41 |
| P7 | ↓T ^a | 1,0 | 24,82 | 4,25 | 1,93 | 64 | 67,57 | 7,22 | 29,17 |
| P8 | MASA MADRE | 1,9 | 23,33 | 5,67 | 2,40 | 38 | 66,95 | 6,46 | 28,53 |
| P9 | VINAGRE | 1,4 | 24,93 | 4,99 | 2,34 | 37 | 67,15 | 6,82 | 27,44 |
| P10 | ASP.↑ | 1,5 | 24,89 | 4,38 | 1,89 | 43 | 71,36 | 5,39 | 26,31 |
| P11 | ASP.↑↑ | 1,3 | 26,25 | 4,65 | 2,02 | 35 | 69,45 | 6,38 | 26,49 |

Tabla 12. Caracterización física de las regañás.

Se aprecian pequeñas diferencias de humedad entre las muestras. Los colores son bastante homogéneos. Cabe recordar que se ha tratado de igualar el color en todos los productos, por lo que los resultados están dentro del orden esperado. Indicar que, visualmente, el consumidor no es capaz de percibir diferencias de color entre muestras menores a 3 puntos en cada uno de los 3 parámetros., lo que a excepción de la muestra de harina integral apoya nuestro objetivo. En cuanto a pesos y espesores se perciben pequeñas diferencias entre muestras. Una de las diferencias más destacables se percibe en el espesor de las regañás, donde aquellas elaboradas con arroz o avena resultaron significativamente más finas que el resto de muestras elaboradas.

En cuanto a la textura de las muestras, en general han presentado grandes similitudes entre las distintas formulaciones. Destacan como las regañás menos firmes las P3 y P4, arroz y avena respectivamente, debido a su espesor. En el extremo contrario se encuentran P8 y P9, que se presentan como las más firmes probablemente debido a su



mayor tiempo de horneado y a una estructura más seca que el resto de muestras. A su vez también se perciben como las muestras menos crujientes, aunque estos resultados han de analizarse junto con las valoraciones sensoriales que se presentan seguidamente.

A continuación se presenta gráficamente la comparativa de los resultados de textura instrumental de las muestras:

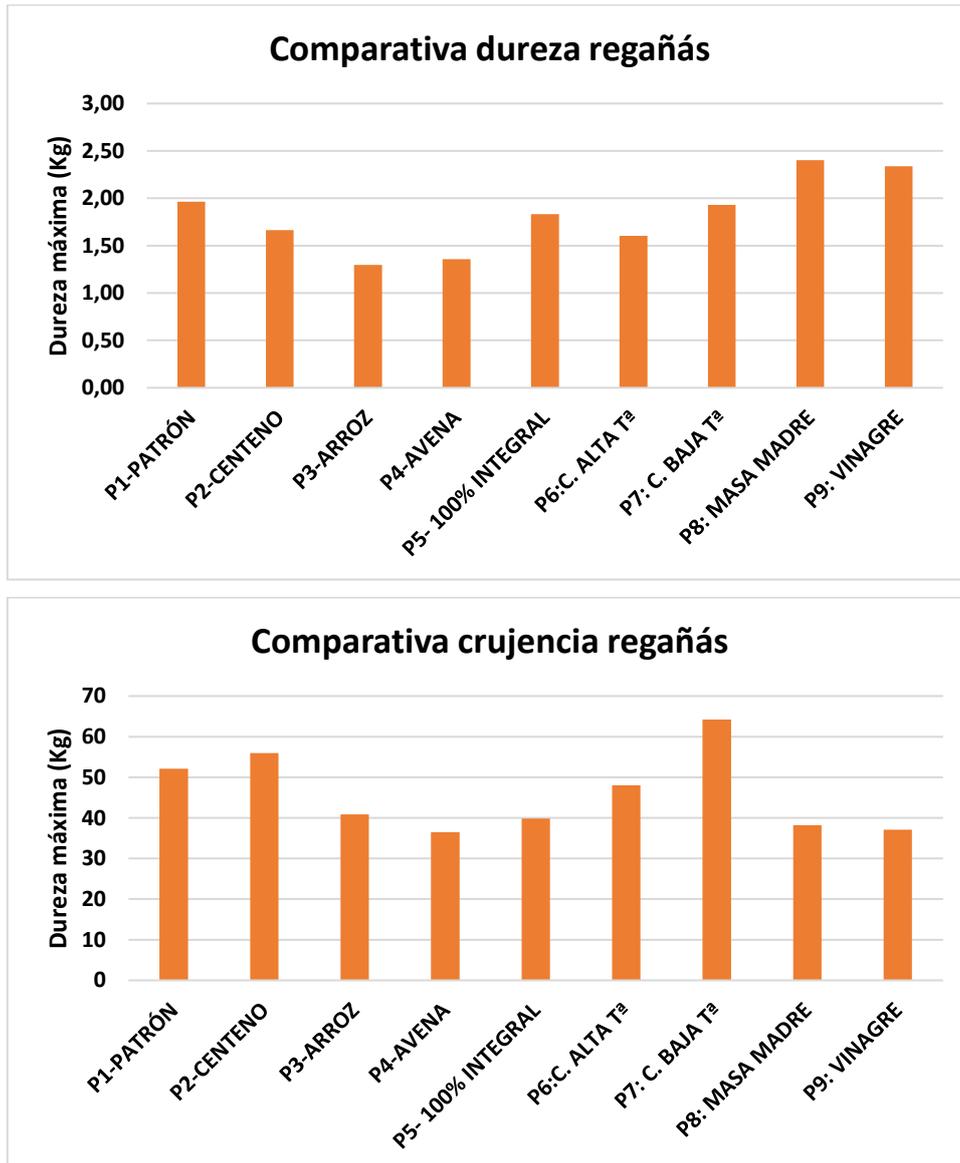


Figura 15. Gráficos de la textura instrumental de los productos panarios elaborados.



Determinación analítica de acrilamida

Los resultados obtenidos de los análisis realizados en las distintas muestras de productos panarios, en este caso regañás, se recogen en la siguiente tabla:

| PRUEBA | COD. | Acrilamida (µg/kg) | Reducción de acrilamida % | COMENTARIOS |
|--------|---------------------------------|--------------------|---------------------------|---|
| P1 | PATRÓN | 392 ± 36 | | |
| P2 | CENTENO | 277 ± 36 | 29.3 | |
| P3 | ARROZ | 62 ± 15 | 84.2 | |
| P4 | AVENA | 221 ± 36 | 43.6 | |
| P5 | 100% INTEGRAL | 942 ± 36 | -140 | Alta a pesar de llevar 2 min menos de cocción |
| P6 | ↑T ^a ↓T ^r | 409 ± 36 | -4.3 | Alta a pesar de llevar 2 min menos de cocción |
| P7 | ↓T ^a ↑T ^r | 476 ± 36 | -21.4 | Alta a pesar de estar a menos temperatura se tuvo que aumentar el tiempo para conseguir color |
| P8 | MASA MADRE | 263 ± 36 | 33 | |
| P9 | VINAGRE | 217 ± 36 | 44.6 | |
| P10 | ASP.↑ | 108 ± 21 | 72.4 | |
| P11 | ASP.↑↑ | 76 ± 26 | 80.6 | |

Tabla 13. Resultados de contenido de acrilamida de las regañás.

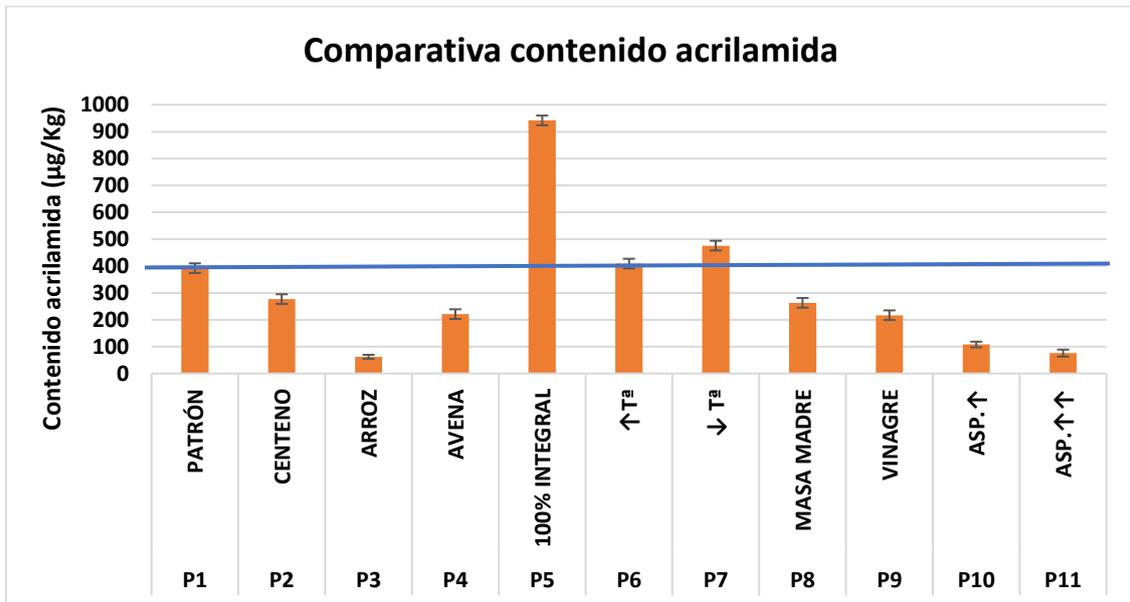


Figura 16. Comparativa del contenido en acrilamida de los productos panarios elaborados.



Caracterización sensorial

Se ha realizado una caracterización sensorial de los productos panarios empleando una ficha de cata desarrollada para tal fin. Las regañás fueron valoradas por un panel de cata entrenado, considerando la valoración de cada descriptor dentro de una escala de 5 puntos de intensidad donde el 1 es la puntuación más baja mientras que el 5 es la máxima.

1-ASPECTO EXTERNO CAMELIZADO. Mediante la vista valoramos el color dorado externo del producto y valoramos dentro de la escala de 5 puntos con 1 si está poco dorado hasta 5 si está muy caramelizado.

2-ASPECTO INTEGRAL. Mediante la vista valoramos el aspecto integral del producto. Si el producto no es integral valoramos con 1.

3-OLOR INTENSIDAD: Por vía directa se valoran las notas olfativas propias para este producto, recuerdos a pan, sésamo, cereales, etc.

4-TEXTURA FIRME. Al deformar las regañás estas pueden ofrecer cierta resistencia a la ruptura. Deben ser fracturables, pero firmes.

5-TEXTURA CRUJIENTE AL MASTICAR: AL deformar el producto se aprecia el ruido. Se valora con 1 si es poco crujiente hasta 5 si es muy crujiente.

6-SABOR AMARGO: Un excesivo tostado suele dar notas amargas en boca.

7-INTENSIDAD DE AROMAS PROPIOS: Por vía retronasal se aprecia la intensidad de las notas a tostado, cereal etc. Son las notas propias de este producto.

8-AUSENCIA DE EXTRAÑOS: También por vía retronasal comprobamos que no se aprecien notas extrañas, a enranciamiento, amargos, medicinales, envejecido, etc.

9-CALIDAD GLOBAL: Valoración general del producto en cuanto a equilibrio de los distintos descriptores sensoriales.

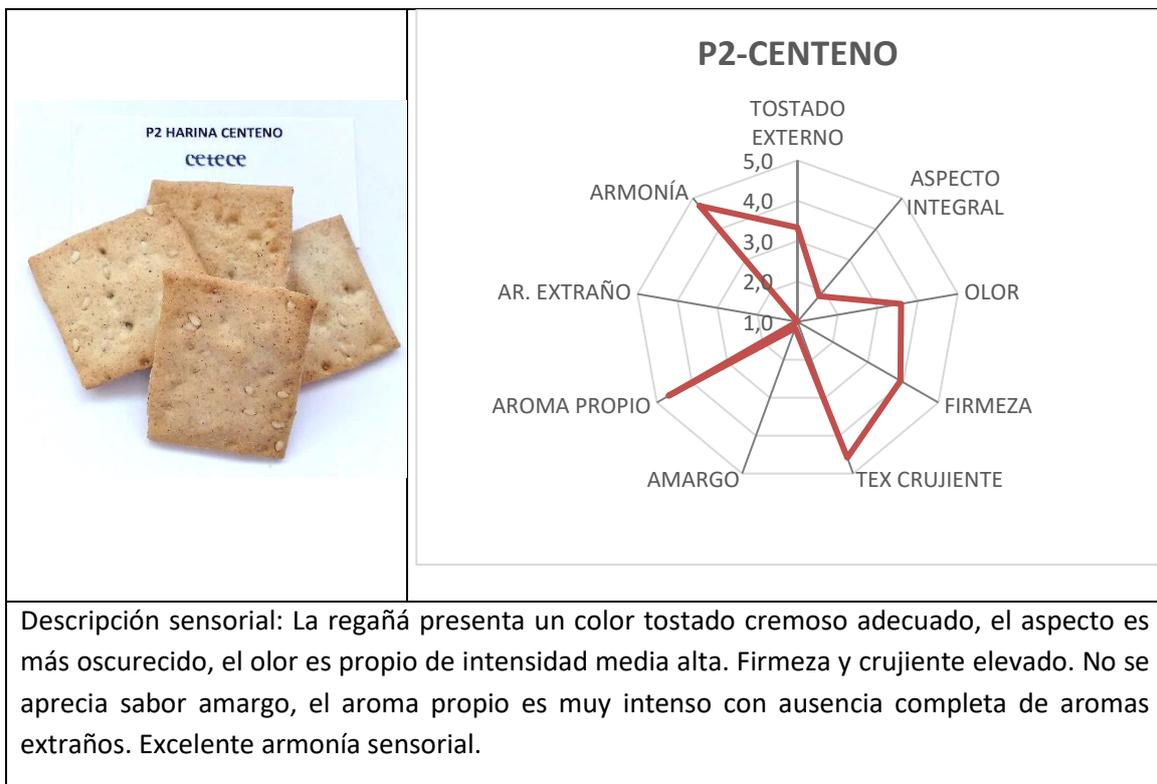
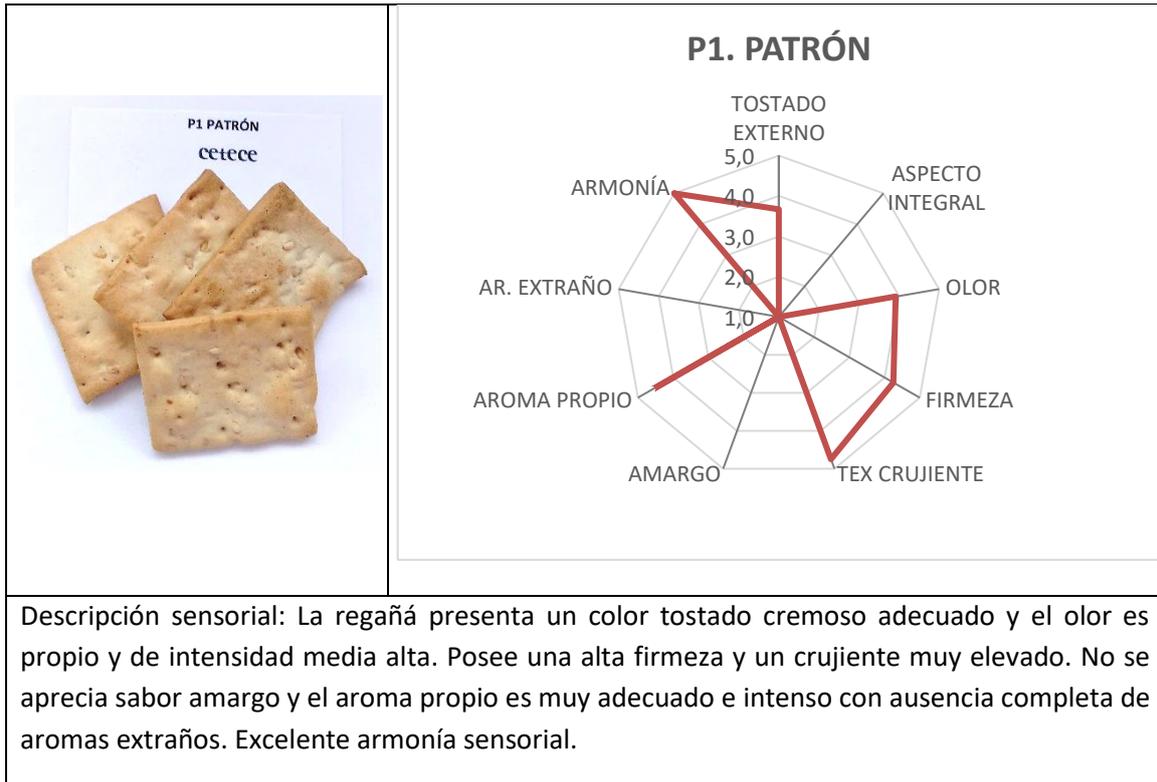


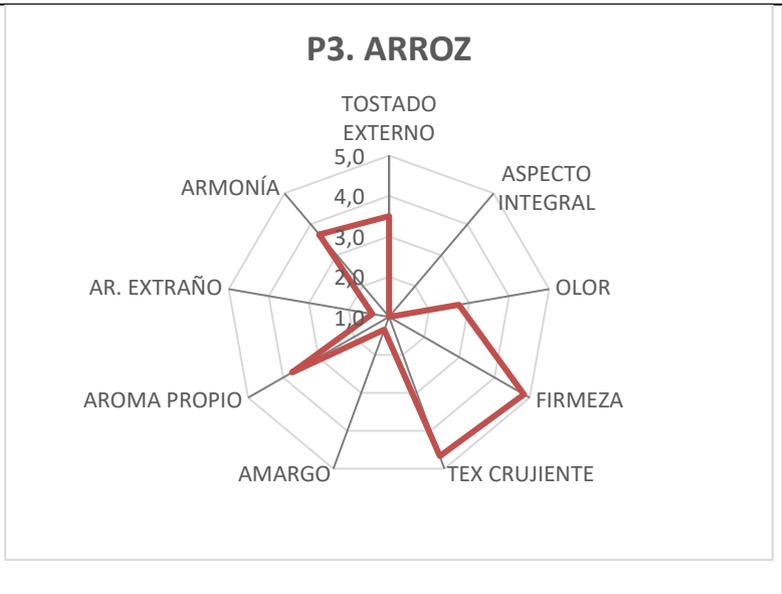
| | |
|-------------------------------------|--|
| cetece CENTRO TECNOLÓGICO | ANÁLISIS SENSORIAL REGAÑAS DISTINTOS CEREALES |
|-------------------------------------|--|

Código catador: _____ Fecha: _____

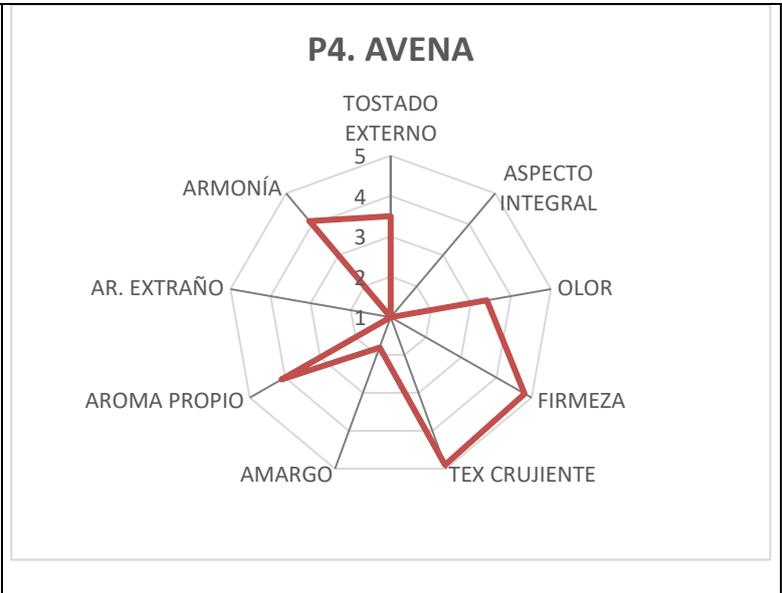
| DESCRIPTORES SENSORIALES | Cód. _____ | Cód. _____ | Cód. _____ |
|--|------------|------------|------------|
| 1-ASPECTO EXTERNO TOSTADO CARAMELIZADO De 1 MARRÓN CREMA a 5 MUY OSCURECIDO | | | |
| 2-ASPECTO INTEGRAL (SI NO ES INTEGRAL VALORAR CON 1) De 1 Nada integral o 5 Muy oscurecido | | | |
| 3-OLOR INTENSIDAD PROPIO De 1 NADA INTENSO a 5 MUY INTENSO | | | |
| 4-TEXTURA FIRME AL MORDER De 1 BLANDA A 5 MUY FIRME | | | |
| 5-TEXTURA CRUJIENTE AL MASTICAR De 1 LIGERAMENTE GRUESA A 5 MUY FINA | | | |
| 6-SABOR AMARGO DE 1 NADA APRECIABLE A 5 INTENSO | | | |
| 7-AROMA PROPIO (CEREAL, SÉSAMO, ETC.) De 1 NADA APRECIABLE a 5 BASTANTE APRECIABLE | | | |
| 8-AROMAS EXTRAÑOS (ENRANCIAMIENTOS, ETC.) De 1 NADA APRECIABLE a 5 APRECIABLE | | | |
| 9-ARMONÍA SENSORIAL (equilibrio). De 1 NADA ADECUADO a 5 MUY ADECUADO | | | |
| Comentarios Grosor de las muestras, poco cocido interior, etc. | | | |

A partir de las puntuaciones obtenidas se llevó a cabo un análisis estadístico de los resultados, de acuerdo a un análisis de la varianza (ANOVA) para comprobar la existencia de diferencias significativas al 95% de confianza entre los parámetros sensoriales evaluados. Para ello se empleó el programa estadístico Statgraphics Centurión v. XVI. A continuación, se presentan los resultados sensoriales obtenidos:





Descripción sensorial: La regañá presenta un color tostado cremoso adecuado, el olor es propio y de intensidad media baja. Firmeza y crujiente muy elevado. Muy ligera apreciación del sabor a arroz, el aroma propio es elevado con ausencia completa de aromas extraños. Aceptable armonía sensorial.

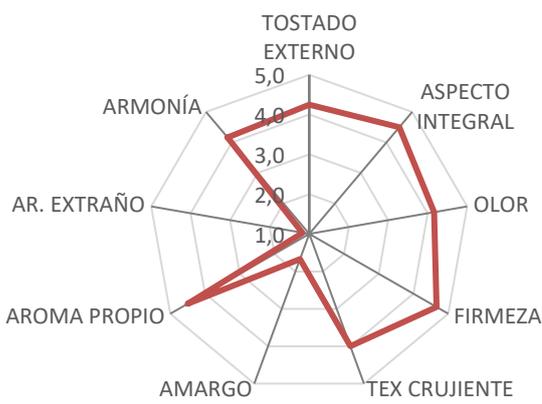


Descripción sensorial: La regañá presenta un color tostado medio, el olor es propio y de intensidad media baja. Firmeza y crujiente muy elevado. Muy ligera apreciación del sabor amargo, el aroma propio es elevado con ausencia completa de aromas extraños. Aceptable armonía sensorial.

P5 100% HARINA INTEGRAL
cetece



P5. 100% HARINA INTEGRAL



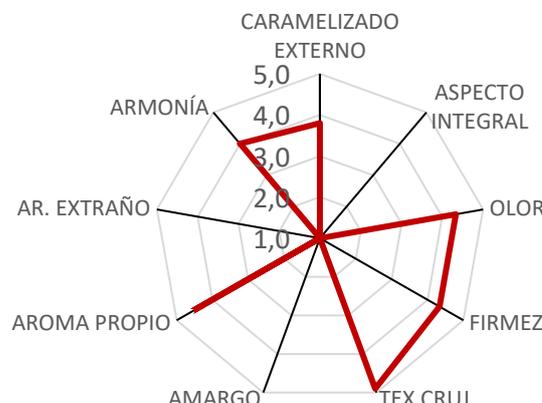
| Criterio | Puntuación |
|------------------|------------|
| TOSTADO EXTERNO | 4,5 |
| ASPECTO INTEGRAL | 4,5 |
| OLOR | 4,5 |
| FIRMEZA | 4,5 |
| TEX CRUJIENTE | 4,5 |
| AMARGO | 3,5 |
| AROMA PROPIO | 4,5 |
| AR. EXTRAÑO | 1,0 |
| ARMONÍA | 1,0 |

Descripción sensorial: La regañá presenta un color tostado cremoso adecuado, con elevado aspecto integral. El olor es propio y de intensidad alta. Firmeza elevada y crujiente apreciable. Se aprecia un ligero sabor amargo siendo el aroma propio muy intenso con ausencia completa de aromas extraños. Buena armonía sensorial.

P6 COCCIÓN ALTA Tª
cetece

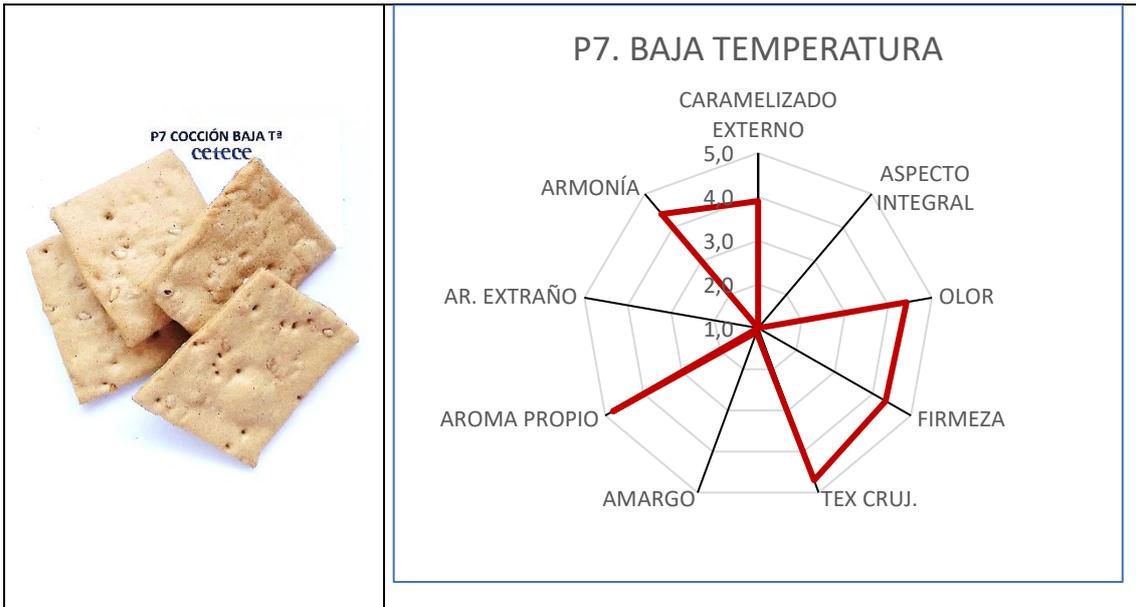


P6. ALTA TEMPERATURA

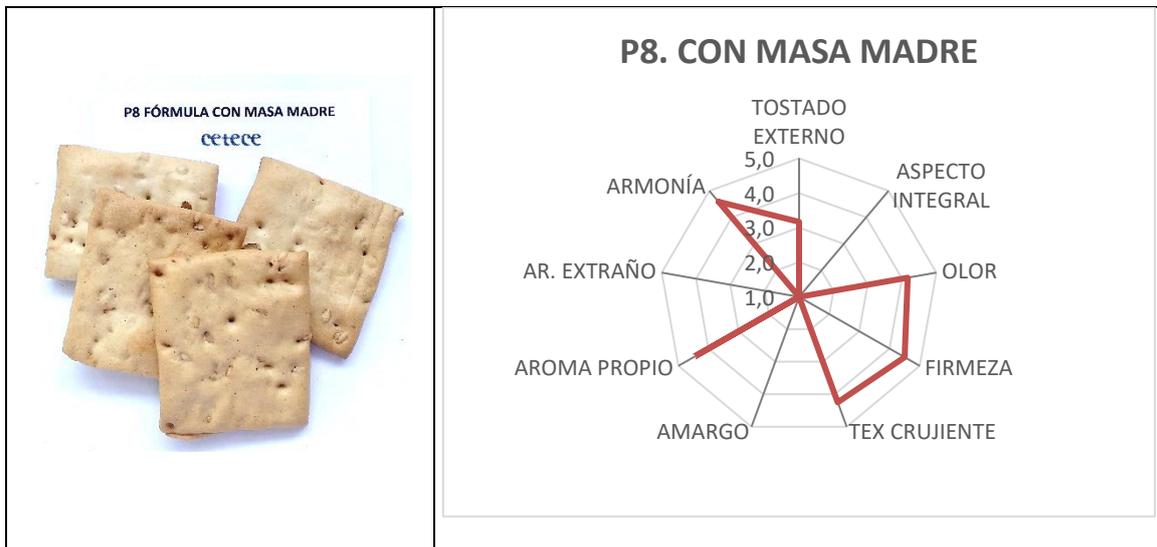


| Criterio | Puntuación |
|----------------------|------------|
| CARAMELIZADO EXTERNO | 4,5 |
| ASPECTO INTEGRAL | 4,5 |
| OLOR | 4,5 |
| FIRMEZA | 4,5 |
| TEX CRUJ. | 4,5 |
| AMARGO | 3,5 |
| AROMA PROPIO | 4,5 |
| AR. EXTRAÑO | 1,0 |
| ARMONÍA | 1,0 |

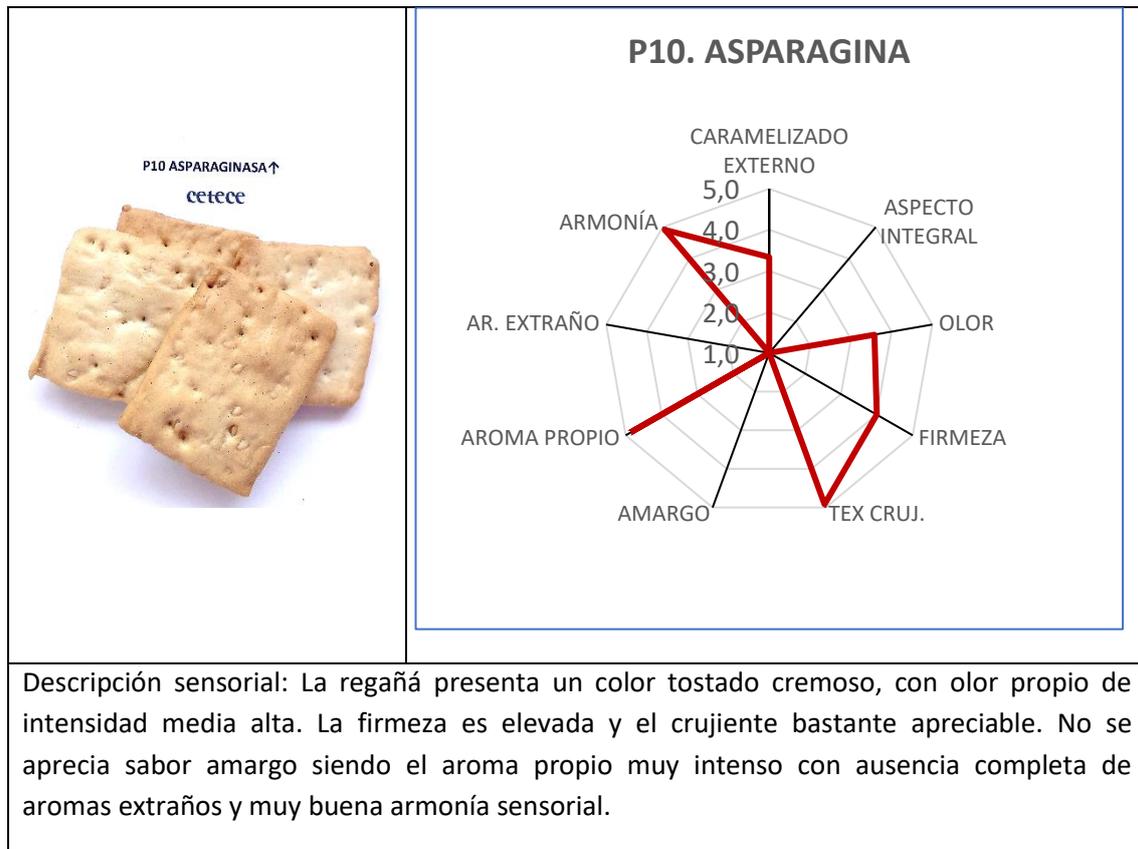
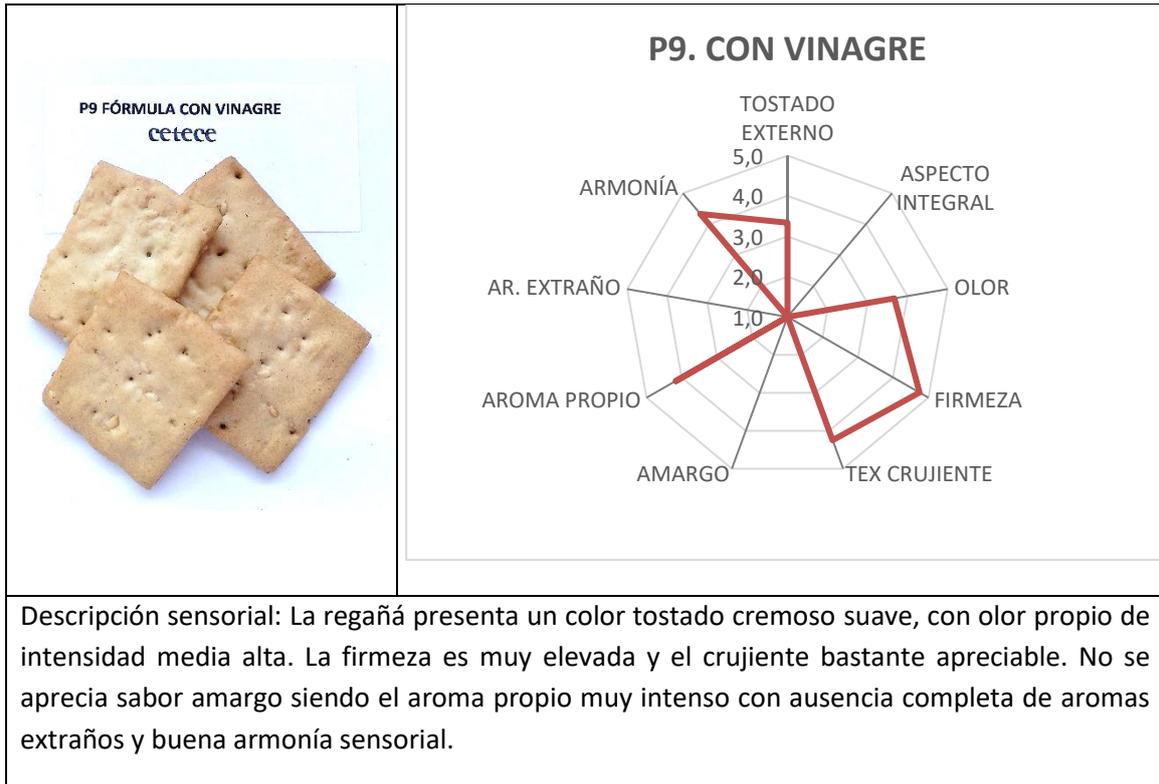
Descripción sensorial: La regañá presenta un color tostado cremoso adecuado, con elevado aspecto integral. El olor es propio y de intensidad alta. Firmeza elevada y crujiente apreciable. Se aprecia un ligero sabor amargo siendo el aroma propio muy intenso con ausencia completa de aromas extraños. Buena armonía sensorial.

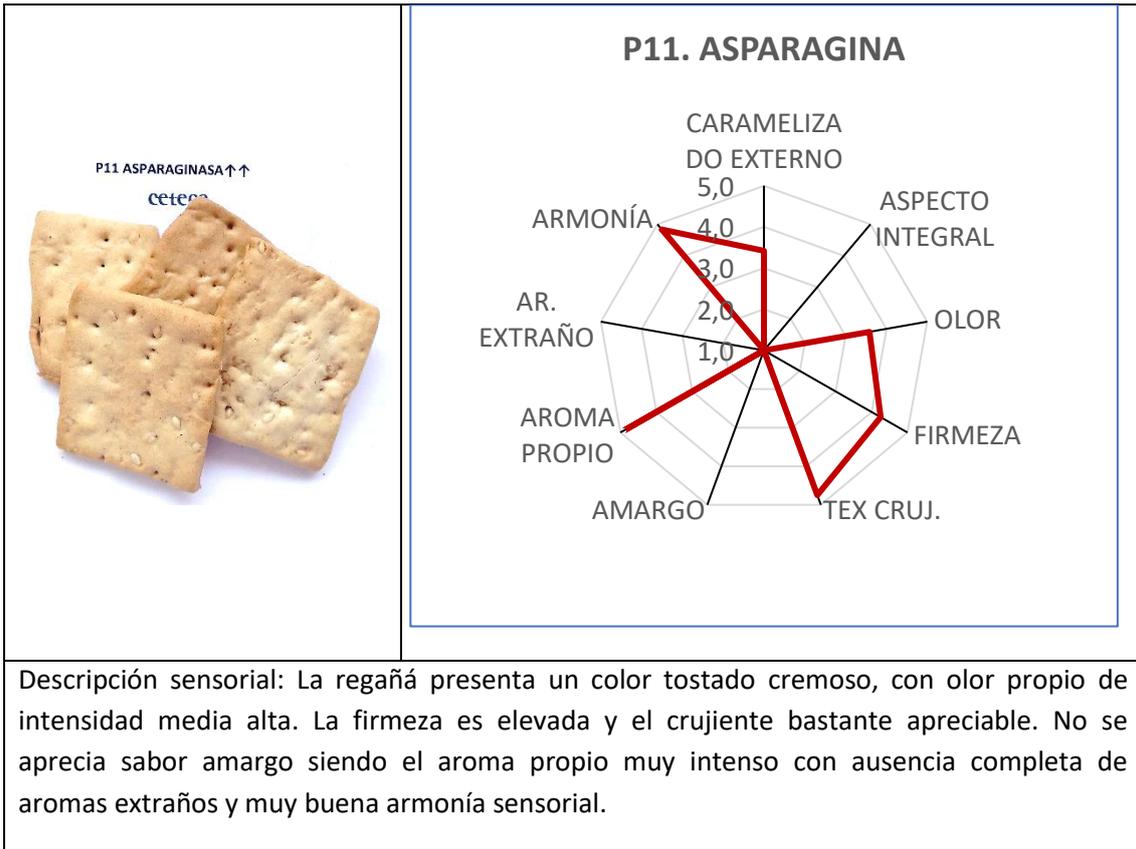


Descripción sensorial: La regañá presenta un color tostado cremoso adecuado y el olor es propio y de intensidad alta. Firmeza elevada y crujiente muy apreciable. Se aprecia un ligero sabor amargo siendo el aroma propio muy intenso con ausencia completa de aromas extraños. Buena armonía sensorial.



Descripción sensorial: La regañá presenta un color tostado cremoso algo suave, con olor propio y de intensidad alta. La firmeza es elevada y el crujiente bastante apreciable. No se aprecia sabor amargo siendo el aroma propio muy intenso con ausencia completa de aromas extraños y muy buena armonía sensorial.





A continuación, se muestran las valoraciones sensoriales simultáneamente donde pueden apreciarse que sólo existen diferencias sensoriales estadísticamente significativas en el aspecto y los olores y aromas de las muestras:



| PRUEBA | COD. | CARAMELIZADO EXTERNOS | OSCURECIDO INTERNO-INTEGRAL | INT. OLOR | FIRMEZA | TEXTURA ADECUADA | AMARGO | AROMA PROPIO | AROMA EXTRAÑO | ARMONÍA |
|---------------|-----------------|-----------------------|-----------------------------|-----------|------------|------------------|-----------|--------------|---------------|-----------|
| P1 | PATRÓN | 3,6 | 1,0 | 3,9 | 4,3 | 4,8 | 1,0 | 4,6 | 1,0 | 5,0 |
| P2 | CENTENO | 3,3 | 1,8 | 3,6 | 3,9 | 4,6 | 1,2 | 4,7 | 1,0 | 4,8 |
| P3 | ARROZ | 3,5 | 1,0 | 2,8 | 4,8 | 4,7 | 1,3 | 3,8 | 1,4 | 3,7 |
| P4 | AVENA | 3,8 | 1,2 | 4,3 | 4,7 | 4,6 | 2,2 | 4,6 | 1,3 | 3,7 |
| P5 | 100% INTEGRAL | 4,3 | 3,5 | 4,2 | 4,7 | 4,0 | 1,7 | 4,5 | 1,2 | 4,2 |
| P6 | ↑T ^a | 3,8 | 1,0 | 4,3 | 4,3 | 4,9 | 2,0 | 4,6 | 1,0 | 4,0 |
| P7 | ↓T ^a | 3,9 | 1,0 | 4,4 | 4,3 | 4,7 | 1,1 | 4,8 | 1,0 | 4,4 |
| P8 | MASA MADRE | 3,2 | 1,0 | 4,2 | 4,5 | 4,3 | 1,0 | 4,5 | 1,0 | 4,6 |
| P9 | VINAGRE | 3,3 | 1,0 | 3,7 | 4,8 | 4,3 | 1,0 | 4,2 | 1,0 | 4,4 |
| P10 | ASP. ↑ | 3,3 | 1,0 | 3,6 | 4,0 | 4,9 | 1,0 | 4,9 | 1,0 | 4,9 |
| P11 | ASP. ↑↑ | 3,4 | 1,0 | 3,6 | 4,3 | 4,8 | 1,0 | 4,9 | 1,0 | 4,8 |
| ANOVA* | | DS | DS | DS | NDS | NDS | DS | DS | NDS | DS |

Tabla 14. Valoraciones sensoriales otorgadas a las regañás.



CONCLUSIONES.

El estudio se ha basado en las recomendaciones del REGLAMENTO (UE) 2017/2158 DE LA COMISIÓN de 20 de noviembre de 2017 por el que se establecen medidas de mitigación y niveles de referencia para reducir la presencia de acrilamida en los alimentos y en experiencias de desarrollos anteriores realizados por CETECE.

Se han realizado medidas de mitigación para reducir acrilamida en tres tipos de productos del Sector de Panadería-Pastelería- Galleta, que han sido elegidos en función de sus características y composición. Los productos han sido: galletas, pan seco (regañas) y rosquillas fritas.

En galletas:

Se han identificado varios ingredientes interesantes para reducir el contenido en acrilamida de la muestra patrón, siendo los más eficaces:

- La sustitución del jarabe de glucosa que suele utilizarse para dar color a las galletas, por proteína láctea y ajuste de agua.
- Sustituir parcialmente la harina de trigo de la galleta por harina de arroz.
- La adición de enzima asparaginasa.

En cuanto al procesado también se han visto mejoras al reducir el tiempo de cocción de las galletas.

En regañas:

Se han identificado varios ingredientes interesantes para reducir el contenido en acrilamida de la muestra patrón de este producto panario, dando los mejores resultados:

- La sustitución de la harina de trigo por harina de arroz.
- La incorporación de acidez a la masa (con adición de vinagre y masa madre)
- Empleo de asparaginasa, en cantidades variables.

En cuanto a procesado, si se reduce la temperatura se necesita más tiempo de cocción para conseguir el mismo color y no se han observado mejoras destacables, al igual que si se reduce el tiempo se necesita mayor temperatura para alcanzar color en el pan, por lo que el contenido en acrilamida no se reduce.



En rosquillas:

Los resultados de acrilamida obtenidos para todas las muestras de rosquillas elaboradas, ha sido muy bajo, muy por debajo de los esperado, por lo que a priori no se considera que sea un producto objetivo o que presente interés en trabajar en reducir un problema que no presenta.

Si se ha podido concluir, que el número de frituras y el color del aceite de fritura no aumenta significativamente el contenido de acrilamida de las rosquillas elaboradas.



Referencias bibliográficas:

- Açar OC, Gökmen V. (2009). Investigation of acrylamide formation on bakery products using a crust-like model. *Mol Nutr Food Res*;53(12):1521–1525.
- Açar OC, Gökmen V. (2010). A new approach to evaluate the risk arising from acrylamide formation in cookies during baking: total risk calculation. *J Food Eng*;100(4):642–648.
- Ahrné L, Claes-Göran A, Floberg P, et al. (2007). Effect of crust temperature and water content on acrylamide formation during baking of white bread: steam and falling temperature baking. *LWT Food Sci Technol*. 40(10):1708–1715.
- Amrein TM, Schönbacher B, Escher F, et al. (2004). Acrylamide in gingerbread: Critical factors for formation and possible ways for reduction. *J Agric Food Chem* 2004;52(13):4282–4288.
- Anese M, Quarta B, Peloux L, et al. (2011). Effect of formulation on the capacity of L-asparaginase to minimize acrylamide formation in short dough biscuits. *Food Res Int.*;44(9):2837–2842.
- Baskar, G.; Aiswarya, R. (2018). Overview on mitigation of acrylamide in starchy fried and baked foods. *J Sci Food Agric*. 98: 4385-4394.
- BOE 1989/2265. (*Última modificación 29-Marzo-2013*). Norma de Calidad para los Aceites y Grasas Calentados.
- Brathen, E., Knutsen, S. H. (2005). Effect of temperature and time on the formation of acrylamide in starch-based and cereal model systems, flat breads and bread. *Food Chemistry*, 92(4), 693–700.
- Capuano E, Ferrigno A, Acampa I, et al. (2008). Characterization of the Maillard reaction in bread crisps. *Eur Food Res Technol.*;228(2):311–319.
- CIAA, (2006). The CIAA acrylamide “toolbox,” rev. 9. /www.ciaa.beS (accessed March 2007).
- Claus, A., Schreiter, P., Weber, A., et al. (2006). Influence of agronomic factors and extraction rate on the acrylamide contents in yeast-leavened breads. *J Agric Food Chem.*;54(23):8968–8976.
- Claus A, Mongili M, Weisz G, et al. (2008). Impact of formulation and technological factors on the acrylamide content of wheat bread and bread rolls. *J Cereal Sci.* ;47(3):546–554.
- Comisión Europea, 2007. Commission Recommendation on the Monitoring the Levels of Acrylamide in Foods. 12.05.207, 331/EC.
- Comisión Europea, 2010. Recomendación del 8 de noviembre de 2013 relativa a la investigación de los niveles de acrilamida en los alimentos (2013/647/UE). <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:301:0015:0017:ES:PDF> Revisado el 9 de junio de 2017.
- Comisión Europea, 2017. Reglamento (UE) 2017/2158 de la Comisión de 20 de noviembre de 2017 por el que se establecen medidas de mitigación y niveles de referencia para reducir la presencia de acrilamida en los alimentos.
- De Vleeschouwer, K., Van der Plancken, I., Van Loey, A., Hendrickx, M. E. (2010). The effect of high pressure_ high temperature processing conditions on acrylamide formation and other maillard reaction compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(22), 11740-11748.



- Delgado-Andrade, C., Mesías, M., Morales, F.J., Seiquer, I., Navarro M.P., (2012). Assessment of acrylamide intake of Spanish boys aged 11e14 years consuming a traditional and balanced diet. *LWT - Food Science and Technology* 46, 16-22.
- EFSA. (2010). A report of the data collection and exposure unit in response to a request from the European Commission. *EFSA Journal*, 8(5), 1599, 1-31.
- EFSA (2011). Scientific Report of EFSA - Results on acrylamide levels in food from monitoring years 2007-2009 and exposure assessment. *EFSA Journal*, 9(4), 2133.
- Elbashir, A. a., Omar, M.M.A., Ibrahim,W.A.W., Schmitz, O.J., Aboul-Enein, H.Y., (2014). Acrylamide analysis in food by liquid chromatographic and gas chromatographic methods. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 44, 107-141.
- FAO, 2009. Prácticas para reducir el contenido de acrilamida en los alimentos (CAC/RCP 67-2009).
- FAO/OMS, (2011). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: Evaluation of certain contaminants in food report from Seventy-second meeting (Rep. No. WHO technical report series; No. 959).
- Friedman, M.; Finot, P. A. (1991). Improvement in the nutritional quality of bread. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 289, 415–445.
- Gökmen V, Açar ÖÇ, Köksel H, et al. (2007). Effects of dough formula and baking conditions on acrylamide and hydroxymethylfurfural formation in cookies. *Food Chem.* 104(3):1136–42.
- Graf M, Amrein TM, Graf S, et al. (2006). Reducing the acrylamide content of a semi-finished biscuit on industrial scale. *LWT Food Sci Technol*;39(7):724–728.
- Haase, N.U., Matthaus, B., Vosmann, K. (2003). Acrylamid in Backwarenein Sachstandbericht. *Getreide, Mehl und Brot* 57, 180- 184.
- Halford, N.G., Curtis, T.Y., Muttucumaru, N., Postles, J., Elmore, S., Mottram, D.S. (2012). The acrylamide problem: a plant and agronomic science issue. *Journal of Experimental Botany*, 63 (8), 2841–2851.
- Hamlet CG, Sadd PA, Liang L, et al. (2007). Exploiting processing conditions to reduce acrylamide in cereal-based foods. Report No.CO21.http://www.foodbase.org.uk/results.php?f_report_id=145. [accessed 30.10.14].
- Huang, L., Liu, Y., Sun, Y., Yan, Q., Jiang, Z. (2014). Biochemical characterization of a novel L-asparaginase with low glutaminase activity from *Rhizomucor miehei* and Its application in food safety and leukemia treatment. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(5), 1561-1569.
- Juarez, D.M. y Sammán, N. (2007). El deterioro de los aceites durante la fritura. *Revista Española de Nutrición Comunitaria* 13(2):82-94.
- Keramat, J.,LeBail, A., Prost, C., Jafari, M. (2011). *Food Bioprocess Technol* 4:530–543.
- Konings, E. J., Baars, A. J., Van Klaveren, J. D., Spanjer, M. C., Rensen, P. M., Hiemstra, M., et al. (2003). Acrylamide exposure from foods of the Dutch population and an assessment of the conquent risk. *Food and Chemical Toxicology*, 41, 1569-1579.
- Kukurová, K., Ciesarová, Z., Mogol, B. A., Açar, O. C., Gökmen, V. (2013). Raising agents strongly influence acrylamide and HMF formation in cookies and conditions for asparaginase activity in dough. *European Food Research and Technology*, 237(1), 1-8.
- Kumar NSM, Shimray CA, Indrani D, et al. (2014). Reduction of acrylamide formation in sweet bread with L-asparaginase treatment. *Food Bioprocess Tech.*;7(3):741–748.
- Levine RA, Smith RE. (2005). Sources of variability of acrylamide levels in a cracker model. *J Agric Food Chem.*;53(11):4410–4416.



- Lim PK, Jinap S, Sanny M, Tan Cp and Khatib A. (2014). The influence of deep frying using various vegetable oils in acrylamide formation sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam) chips. *Journal of Food Science*, 79, 115–121.
- Marconi O, Bravi E, Perretti G, et al. (2010). Acrylamide risk in food products: the shortbread case study. *Anal. Methods* 2010;2(11):1686–91.
- McCollister, D. D., Oyen, F., Rowe, V. K. (1964). Toxicology of acrylamide. *Therapie der Gegenwart*, 103, 172–181.
- Mesías, M.; Delgado-Andrade, C.; Holgado, F.; Morales, F.J. (2019). Acrylamide content in French fries prepared in food service establishments. *LWT - Food Science and Technology* 100, 83–91.
- Mesías, M.; Delgado-Andrade, C.; Holgado, F.; Morales, F.J. (2018). Acrylamide content in French fries prepared in households: A pilot study in Spanish homes. *Food Chemistry* 260, 44–52.
- Mesías, M., Morales, F.J. (2016). Acrylamide in bakery products. In: Chapter 7. Acrylamide in Foods.
- Mogol BA, Gökmen V. (2014). Mitigation of acrylamide and hydroxymethylfurfural in biscuits using a combined partial conventional baking and vacuum post-baking process: preliminary study at the lab scale. *Innov Food Sci Emerg Tech*;26:265–70.
- Mojska H, Gielecinska I, Szponar L, et al. (2010). Estimation of the dietary acrylamide exposure of the Polish population. *Food Chem Toxicol.* ;48(8–9):2090–2096.
- Mottram, D. S., Wedzicha, B. L., Dodson, A. T., (2002). Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, 419, 448–449.
- Müller: Acrylamide minimization concept got off to a successful start. Verbraucherministerium <http://www.verbraucherministerium.de/>
- Muttucumaru, N., Elmore, J. S., Curtis, T., Mottram, D. S., Parry, M. A., Halford, N. G. (2008). Reducing acrylamide precursors in raw materials derived from wheat and potato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6167–6172.
- Muttucumaru, N., Halford, N.G., Elmore, S.J., Dodson, A.T., Parry, M., Shewry, P.P., Mottram, D.S., (2006). Formation of high levels of acrylamide during the processing of flour derived from sulfatedeprived wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 8951–8955.
- Notardonato, I., Avino, P., Centola, A., Cinelli, G., Russo, M.V., 2013. Validation of a novel derivatization method for GC-ECD determination of acrylamide in food. *Anal. Bioanal. Chem.* 405, 6137–6141.
- OCU (2017). Estudio de aceites de freír. OCU-Compara maestra 421, 24–27. www.ocu.org
- Oracz, J., Nebesny, E., Zyzelewicz, D., (2011). New trends in quantification of acrylamide in food products. *Talanta* 86, 23–34.
- Ospina H. M., Castellanos-Galeano, F.J., Ospina O.A. (2014). Determinación del modelo matemático de la formación de acrilamida en el proceso de fritura por inmersión de plátano (*musa paradisíaca*) verde y maduro. RREDSI Red Regional de Semilleros de Investigación.
- R.D. 1047/2002, de 18 de Octubre por el que se regula el proceso de elaboración, circulación y comercio de aguas de bebida envasadas. Ministerio de la Presidencia. B.O.E. nº 259/2002 – 29 de Octubre.
- Saleh, S., El-Okazy, A. M. (2007). Assessment of the mean daily dietary intake of acrylamide in Alexandria. *Journal of Egypt Public Health Association*, 82, 331–345.
- Sanny, M., Jinap, S., Bakker, E.J., Van Boekel, M.A.J.S., Luning, P.A., (2012). Is lowering reducing sugars concentration in French fries an effective measure to reduce acrylamide concentration in food service establishments? *Food Chem.* 135, 2012–2020.



- Smith, E. A., Prues, S. L., Oehme, F. W. (1996). Environmental degradation of polyacrylamides. 1. Effects of artificial environmental conditions: Temperature, light, and pH. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 35(2), 121–135.
- Stadler, R. H., Blank, I., Varga, N., et al. (2002). Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature*, 419, 449–450.
- Surdyk N, Rosén J, Andersson R, et al. (2004). Effects of asparagine, fructose and baking conditions on acrylamide content in yeast-leavened wheat bread. *J Agric Food Chem.*;52(7):2047–2051.
- Taeymans D, Wood J, Ashby P, et al. (2004). A review of acrylamide: an industry perspective on research, analysis, formation, and control. *Crit Rev Food Sci Nutr.*;44(5):323–47.
- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., Tornqvist, M. (2002). Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50(17), 4998–5006.
- Vass M, Amrein TM, Schönbächler B, et al. (2004). Ways to reduce the acrylamide formation in cracker products. *Czech J Food Sci.*;22(special issue):19–21.
- Zamora, R., Hidalgo, F. J. (2008). Contribution of lipid oxidation products to acrylamide formation in a model system. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56, 6075-6080.
- Zyzak, D. V., Sanders, R. A., Stojanovic, M., Tallmadge, D. H. et al. (2003). Acrylamide formation mechanism in heated foods. *J. Agric. Food. Chem.*, 51, 4782–4787.



Anexo:



1 of 2

Valid from 2017-08-01

Acrylaway® L

In this product the key enzyme activity is provided by asparaginase that hydrolyzes asparagine to aspartate and ammonium

PRODUCT CHARACTERISTICS/PROPERTIES

| | |
|---|--------------|
| Component name | Asparaginase |
| Activity | 3500 ASNU/g |
| Color | Light yellow |
| Physical form | Liquid |
| Approximate density (g/ml) | 1.13 |
| <i>Color can vary from batch to batch. Color intensity is not an indication of enzyme activity.</i> | |

PRODUCT SPECIFICATION

| | Lower Limit | Upper Limit | Unit |
|--------------------|--------------|-------------|-------|
| Asparaginase ASNU | 3500 | | /g |
| Total viable count | - | 50000 | /g |
| E.coli | Not Detected | | /25 g |
| Coliform bacteria | | 30 | /g |
| Salmonella | Not Detected | | /25 g |
| Heavy metals | | Max 30 | mg/kg |
| Lead | | Max 5 | mg/kg |
| Arsenic | | Max 3 | mg/kg |
| Cadmium | | Max 0.5 | mg/kg |
| Mercury | | Max 0.5 | mg/kg |

The enzyme analytical method is available from the Customer Center or sales representative.

COMPOSITION

| Ingredients | Appr. % (w/w) |
|----------------------------------|---------------|
| Glycerol, CAS no. 56-81-5 | 50 |
| Water, CAS no. 7732-18-5 | 46 |
| Asparaginase, CAS no. 9015-68-3* | 4 |

*Defined as enzyme conc. (dry matter basis)

ALLERGEN

| Allergen | Substance contained ¹ | Allergen | Substance contained ¹ |
|-----------------------------|----------------------------------|--|----------------------------------|
| Celery | no | Molluscs | no |
| Cereals containing gluten** | no | Mustard | no |
| Crustaceans | no | Nuts ³ | no |
| Egg | no | Peanuts | no |
| Fish | no | Sesame | no |
| Lupin | no | Soy | no |
| Milk (including lactose) | no | Sulphur dioxide/sulphites, more than 10 mg per kg or l | no |

¹Definition of substances according to EU Regulation 1169/2011, as amended. List covers allergens mentioned in 21 USC 301 (US) and GB 7718-2011 (China).

²i.e. wheat, rye, barley, oats, spelt, kamut

³i.e. almond, hazelnut, walnut, cashew, pecan nut, Brazil nut, pistacchio nut, macadamia nut and Queensland nut

⁴ If No: Glutenfree i.e. < 20ppm (EU Regulation 41/2009)

NUTRITIONAL VALUES

The product has a typical nutritional value of approximately 568 kJ/100 g enzyme product.

| | |
|------------|------------|
| • Protein | 4 g/100 g |
| • Polyols | 50 g/100 g |
| • Moisture | 46 g/100 g |

GM STATUS

This product is not a GMO.

Production organism *Aspergillus oryzae*

The enzyme product is manufactured by fermentation of a microorganism that is not present in the final product. The production organism is characterized as self-cloned according to the EU definition.

