

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA
Máster Universitario en Tecnología y Calidad Agroalimentaria



**Evaluación del efecto del agente leudante en
el contenido en
hidroximetilfurfural en bizcocho**

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Convocatoria Septiembre – 2022

AUTOR: María Victoria Arias Naranjo

DIRECTOR/ES: Esther Sendra Nadal
Hanán Issa Issa



MÁSTER UNIVERSITARIO EN TECNOLOGÍA Y CALIDAD AGROALIMENTARIA

VISTO BUENO DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER

CURSO 2021/2022

| Director/es del trabajo |
|--|
| Esther Sendra Nadal Hanán Issa Issa |

Dan su visto bueno al Trabajo Fin de Máster

| Título del Trabajo |
|--|
| Evaluación del efecto del agente leudante en el contenido en hidroximetilfurfural en bizcocho. |
| Alumno |
| María Victoria Arias Naranjo |

Orihuela, a 5 de septiembre de 2022

Firma/s tutores trabajo



MÁSTER UNIVERSITARIO EN TECNOLOGÍA Y CALIDAD AGROALIMENTARIA

REFERENCIAS DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER

Título: Evaluación del efecto del agente leudante en el contenido en hidroximetilfurfural en bizcocho.

Title: Evaluation of the effect of the leavening agent on the content of hydroxymethylfurfural in sponge cake.

Modalidad (proyecto/experimental): Experimental

Type (project/research): Research

Autor/Author: María Victoria Arias Naranjo

Director/es/Advisor: Esther Sendra Nadal, Hanán Issa Issa

Convocatoria: Septiembre

Month and year: Septiembre 2022

Número de referencias bibliográficas/number of references: 15

Número de tablas/Number of tables: 7

Número de figuras/Number of figures: 0

Número de planos/Number of maps: 0

Palabras clave (5 palabras): levadura química, bizcocho, comercial, casero, HMF.

Key words (5 words): chemical leaven, sponge cake, commercial, homemade, HMF.



MÁSTER UNIVERSITARIO EN TECNOLOGÍA Y CALIDAD AGROALIMENTARIA

RESUMEN (mínimo 10 líneas):

El hidroximetilfurfural (HMF) se forma por la descomposición térmica de azúcares, y su presencia en productos horneados puede suponer un riesgo para la salud humana, por este motivo la industria alimentaria necesita desarrollar estrategias para mitigar su formación. Diferentes factores, como la temperatura, pH y humedad, así como el tiempo de horneado afectan a la formación de este compuesto. El objetivo principal de este trabajo es, determinar el contenido en HMF en productos horneados comerciales del tipo bizcocho y en bizcochos elaborados de forma tradicional y evaluar sus características de humedad, color y pH. Este primer paso nos orientará sobre el contenido en HMF en bizcochos comerciales. En segundo lugar, ensayar sobre una formulación básica de bizcocho, diferentes agentes leudantes (soda, y soda combinada con ácidos orgánicos) para evaluar su efecto en la generación de HMF. El HMF se determinó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con un detector de UV a 285 nm. En bizcochos comerciales no es tan común el uso de ácidos orgánicos junto con los agentes leudantes como en la elaboración casera de bizcochos. Se observa que, la presencia de ácidos orgánicos en la formulación, principalmente ácido tartárico, contribuye a una mayor generación de HMF.

ABSTRACT (10 lines or more):

Hydroxymethylfurfural (HMF) is formed by the thermal decomposition of sugars, and its presence in baked products can pose a risk to human health, for this reason the food industry needs to develop strategies to mitigate its formation. Different factors, such as temperature, pH and humidity, as well as the baking time can affect the formation of this compound. The objective of this work is, firstly, to determine the content of HMF in commercial baked products of the sponge cake type and in traditionally made sponge cakes to evaluate their moisture, color, and pH characteristics. This first step will provide reference values of commercial products. Second, to test different leavening agents (soda, and soda combined with organic acids) on a basic sponge cake formulation to evaluate their effect on the generation of HMF and the profile of organic acids, humidity, and color of the sponge cake. HMF will be determined by high performance liquid chromatography (HPLC) with a UV detector at 285 nm. In commercial sponge cakes, the use of organic acids together with leavening agents is not as common as in home-made sponge cakes. The results show that the presence of organic acids increased the formation of HMF especially when tartaric acid was used.

Evaluación del efecto del agente leudante en el contenido en hidroximetilfurfural en bizcocho.

M.V. Arias¹, H. Issa-Issa¹ y E. Sendra¹.

¹Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH),
Universidad Miguel Hernández, Carretera de Beniel, km 3.2, 03312, Orihuela, Alicante.

E-mail: maria.arias02@goumh.umh.es

Resumen

El hidroximetilfurfural (HMF) se forma por la descomposición térmica de azúcares, y su presencia en productos horneados puede suponer un riesgo para la salud humana, por este motivo la industria alimentaria necesita desarrollar estrategias para mitigar su formación. Diferentes factores, como la temperatura, pH y humedad, así como el tiempo de horneado afectan a la formación de este compuesto. El objetivo principal de este trabajo es, determinar el contenido en HMF en productos horneados comerciales del tipo bizcocho y en bizcochos elaborados de forma tradicional y evaluar sus características de humedad, color y pH. Este primer paso nos orientará sobre el contenido en HMF en bizcochos comerciales. En segundo lugar, ensayar sobre una formulación básica de bizcocho, diferentes agentes leudantes (soda, y soda combinada con ácidos orgánicos) para evaluar su efecto en la generación de HMF. El HMF se determinó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con un detector de UV a 285 nm. En bizcochos comerciales no es tan común el uso de ácidos orgánicos junto con los agentes leudantes como en la elaboración casera de bizcochos. Se observa que, la presencia de ácidos orgánicos en la formulación, principalmente ácido tartárico, contribuye a una mayor generación de HMF.

Palabras clave: levadura química, bizcocho, comercial, casero, HMF.

Evaluation of the effect of the leavening agent on the content of hydroxymethylfurfural in sponge cake.

Abstract

Hydroxymethylfurfural (HMF) is formed by the thermal decomposition of sugars, and its presence in baked products can pose a risk to human health, for this reason the food industry needs to develop strategies to mitigate its formation. Different factors, such as temperature, pH and humidity, as well as the baking time can affect the formation of this compound. The objective of this work is, firstly, to determine the content of HMF in commercial baked products of the sponge cake type and in traditionally made sponge cakes to evaluate their moisture, color, and pH characteristics. This first step will provide reference values of commercial products. Second, to test different leavening agents (soda, and soda combined with organic acids) on a basic sponge cake formulation to evaluate their effect on the generation of HMF and the profile of organic acids, humidity, and color of the sponge cake. HMF will be determined by high performance liquid chromatography (HPLC) with a UV detector at 285 nm. In commercial sponge cakes, the use of organic acids together with leavening agents is not as common as in home-made sponge cakes. The results show that the presence of organic acids increased the formation of HMF especially when tartaric acid was used.

Keywords: chemical leaven, sponge cake, commercial, homemade, HMF.

1. Introducción

Los bizcochos están tradicionalmente formulados con harina, huevo, aceite y azúcar. Durante su elaboración, en la etapa de horneado, se producen reacciones de caramelización y Maillard que dan lugar a los atributos sensoriales característicos de estos productos. Estas reacciones precisan de unas condiciones determinadas, ocurren entre el grupo amino libre, principalmente de la lisina, y el grupo carbonilo de azúcares reductores (fructosa, glucosa, maltosa, etc.), además da lugar a compuestos que pueden suponer un riesgo para la salud de los consumidores (Kroh, 1994).

Entre estos compuestos se encuentran los compuestos furánicos, como el 5-Hidroximetilfurfural (HMF) o el furfural (F). El HMF se ha empleado como una herramienta para determinar los cambios producidos en los alimentos tras su procesamiento térmico y es considerado como contaminante durante el procesado (Rufián-Henares *et al.*, 2006; Kowalski *et al.*, 2013; González-Mulero *et al.*, 2022). Asimismo, al HMF se le atribuyen efectos perjudiciales para el organismo, como el potencial carcinogénico de su derivado sulfonado 5-sulfoximetilfurfural (SMF). En adición, la presencia de HMF y otros indicadores de las reacciones de Maillard se correlaciona con la presencia de acrilamida, por ello el HMF se recomienda como indicador para su control en productos horneados (Keramat *et al.*, 2011). Para establecer la exposición real de los consumidores o la ingesta diaria tolerable (TDI) los estudios son limitados, sin embargo, varios estudios demuestran que no se observan efectos adversos entre 80-100 mg/kg de peso corporal y día (Abraham *et al.*, 2011). Es necesario conocer su relevancia toxicológica, así como la exposición real de la población para establecer límites legales en los alimentos y fijar un valor de TDI.

La formación del HMF durante el horneado se ha estudiado por diversos autores y se ha demostrado la influencia de la temperatura, tiempo y humedad en horno, así como de la formulación: tipo de azúcar empleado, presencia de ácidos, pH, actividad de agua, entre otros. Su aparición se ve favorecida cuando se da en un entorno ácido y con baja humedad (Zhang *et al.*, 2012; Kowalski *et al.*, 2013; Masatcioglu *et al.*, 2015). En un estudio reciente de González-Mulero *et al.* (2022) se analizaron muestras de alimentos preparados en España y se observó que el contenido en HMF era mayor en torrijas y bizcochos. A propósito de la influencia del medio, durante la elaboración de bizcochos caseros con ingredientes tradicionales se emplean diferentes agentes leudantes (levaduras químicas) que reaccionan con la masa y producen gases, obteniendo así la textura deseada en los bizcochos. Los agentes leudantes más empleados son las sales inorgánicas como el bicarbonato de sodio o soda, pero bien en el mercado local se encuentran otros tipos de levaduras químicas que contienen ácidos orgánicos como el ácido málico o tartárico en combinación con las sales inorgánicas. Actualmente, no se conoce el efecto de estos agentes en la generación de HMF y el desarrollo del color en bizcochos.

Por tanto, los objetivos de este trabajo son (i) analizar el contenido de HMF en bizcochos comerciales y evaluar sus características de humedad, color y pH para tomar estos valores como referencia, (ii) elaborar bizcochos de forma tradicional para evaluar el efecto del tipo de agente leudante (3 tipos) empleado en la formación de HMF junto con la evaluación de humedad, color, pH, azúcares y ácidos orgánicos.

2. Materiales y Métodos

2.1 Material

Para la selección de los bizcochos comerciales, se visitaron tres establecimientos de diferentes cadenas de distribución, se seleccionaron aquellos que en su formulación no tuvieran frutos secos, ni leche, ni chocolate. En una segunda selección se descartaron diversos formatos del mismo producto (cortados, con/sin azúcar en superficie) y quedaron 7 productos (4 con y 3 sin azúcar). En la **Tabla 1** y **2** se detallan el valor nutricional y los ingredientes de los bizcochos comerciales. Las muestras se conservaron a temperatura ambiente hasta el día del análisis.

En la elaboración de los bizcochos se empleó una formulación tradicional con huevos, harina, azúcar, aceite de girasol, agua y agentes leudantes obtenidos en puntos de venta locales y comúnmente empleadas para la elaboración casera de bizcochos (ácido cítrico, tartárico y mezcla de tartárico y málico). La composición de cada muestra se detalla en la **Tabla 3**.

La elaboración se realizó según Zhang *et al.* (2012), los moldes empleados fueron de 12 x 8 cm y se vertieron 100 g de masa cruda en cada uno. Se realizaron 3 lotes para cada formulación de bizcocho. Las condiciones de horneado fueron de ubicación a altura media, temperatura 175 °C durante 17 minutos. Las muestras se atemperaron a temperatura ambiente y se analizaron el mismo día de su elaboración. Los bizcochos se analizaron por triplicado y los resultados se expresan como la media \pm desviación estándar (SD).

Tabla 1. Valor nutricional de los bizcochos comerciales (A-G) indicado en el envase por cada 100 g.

| Muestra | Valor energético (kcal/100 g) | Grasas | | Hidratos de | Azúcares | Proteínas | Sal |
|----------|----------------------------------|--------|-----------|----------------------|----------|-----------|-------|
| | | Grasas | Saturadas | Carbono (g/100 g) | | | |
| A | 425 | 22,2 | 2,9 | 51,6 | 26,8 | 4,9 | <0,02 |
| B | 430 | 23,0 | 3,0 | 48,0 | 25,0 | 6,0 | 1,0 |
| C | 520 | 33,6 | 8,9 | 47,4 | <0,5 | 6,6 | 0,11 |
| D | 440 | 25,1 | 3,6 | 47,5 | 3,5 | 5,8 | 0,13 |
| E | 440 | 25,1 | 3,6 | 47,5 | 3,5 | 5,8 | 0,13 |
| F | 421 | 23,0 | 2,8 | 47,0 | 20,0 | 6,1 | 0,78 |
| G | 433 | 24,9 | 2,8 | 48,8 | 21,4 | 5,6 | 0,6 |

Tabla 2. Ingredientes de los bizcochos comerciales (A-G) indicados en el envase.

| Muestra | Ingredientes |
|----------|---|
| A | Harina de trigo, aceite de girasol, azúcar, huevo, sorbitol, glicerol, dextrosa, difosfato disódico, bicarbonato, carbonato calcio, ácido tartárico, ácido ascórbico, ácido sórbico, ácido láctico, mono y diglicéridos, aroma limón, goma xantana. |
| B | Harina de trigo, aceite de girasol, azúcar, huevo, glicerol, sorbitol, carbonatos, ácido sórbico, goma xantana. |
| C | Harina de trigo, aceite vegetal, maltitol, huevo, difosfato disódico, bicarbonato. |
| D | Harina de trigo, aceite vegetal, maltitol, huevo, difosfato disódico, bicarbonato, naranja. |
| E | Harina de trigo, aceite vegetal, maltitol, huevo, difosfato disódico, bicarbonato, limón. |
| F | Harina de trigo, aceite de girasol, azúcar, huevo, sorbitol, difosfato disódico, carbonato de sodio, ácido sórbico, jarabe de glucosa y fructosa, mono y diglicéridos, goma guar. |
| G | Harina de trigo, aceite de girasol, azúcar, huevo, sorbitol, glicerol, pirofosfato ácido de sodio, bicarbonato sódico, ácido sórbico, ácido láctico, jarabe de glucosa y fructosa, goma xantana. |

Tabla 3. Formulación de los bizcochos elaborados con aceite expresado en g/100 g de masa.

| Muestra ¹ | Ingredientes (g/100 g) | | | | | | |
|----------------------------|------------------------|-------|--------|--------|------|------|-------|
| | Harina de trigo | Huevo | Azúcar | Aceite | Agua | Soda | Ácido |
| Cítrico | 24,9 | 16,2 | 24,9 | 16,2 | 16,2 | 0,8 | 0,8 |
| Tartárico | 24,9 | 16,2 | 24,9 | 16,2 | 16,2 | 0,8 | 0,8 |
| Control² | 24,9 | 16,2 | 24,9 | 16,2 | 16,2 | 1,6 | 0,0 |
| Málico y Tartárico | 24,9 | 16,2 | 24,9 | 16,2 | 16,2 | 0,8 | 0,8 |

¹Tipo de ácido empleado en cada formulación. ²No contiene agentes leudantes ácidos.

2.2 Determinación Parámetros Fisicoquímicos

Se determinó el pH de los bizcochos en suspensión en agua. La humedad se determinó mediante las pérdidas de agua de la muestra por secado. El color se midió en la superficie y en el interior de cada bizcocho. Se usó un colorímetro CR-200 (Konica Minolta, Inc., Tokio, Japón), empleando las coordenadas del sistema CIELab (L^* , a^* , b^*). Una vez obtenidas las coordenadas se calculó la ΔE^* con respecto a la muestra control, seleccionada como bizcocho estándar. Cuando ΔE^* alcanza valor de 100 los colores se perciben como totalmente opuestos, valores entre 10 y 50 de ΔE^* se perciben como diferentes pero no opuestos, valores entre 2-10 se perciben como colores diferentes a simple vista, con ΔE^* entre 1-2 se considera que las diferencias se perciben observando con detenimiento y si ΔE^* es ≤ 1 las diferencias de color con la muestra estándar no son perceptibles (Francis y Clydesdale, 1975).

2.3 Contenido Ácidos Orgánicos, Azúcares e HMF

Los perfiles de azúcares y ácidos grasos se identificaron y cuantificaron según Carbonell-Barrachina *et al.* (2012) con algunas modificaciones. Los azúcares se detectaron y cuantificaron en un detector de índice de refracción y los ácidos orgánicos con un diodo array (DAD) a longitud de onda de 210 nm. Para la cuantificación se utilizaron rectas de calibración de patrones puros (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). La separación se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Hewlett-Packard HPLC series 1100), con una columna Supelcogel C-610H, 30 cm*7,8 mm (Supelco Park, Bellefonte, Unites States).

La preparación de las muestras para la extracción y posterior análisis de HMF se realizó según el método descrito por Petisca *et al.* (2014). La separación se realizó mediante HPLC (Hewlett-Packard HPLC series 1200), con una columna Lichrocart, 30 cm*7,8 mm (Supelco Park, Bellefonte, Unites States) acoplada a un detector de UV a 285 nm.

2.4 Análisis Estadístico

Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) con un factor. Las medias se compararon según el test de rangos múltiples Tukey, utilizando el paquete de software SPSS IBM Statistics 26.0. Las diferencias se consideran estadísticamente significativas con $p < 0,05$.

3. Resultados y Discusión

3.1 Bizcochos Comerciales

Los resultados obtenidos tras el análisis del pH, humedad, contenido de HMF, ácidos orgánicos (cítrico y málico) y azúcares (sacarosa, glucosa y fructosa) de los bizcochos comerciales (A-G) se recogen en la **Tabla 4**. Los datos para el pH mostraron diferencias significativas ($p \leq 0,001$) entre todas las muestras, siendo la muestra A la que presentó un pH más ácido e igual a $6,80 \pm 0,03$, y la muestra C la que presentó un pH más básico igual a $9,61 \pm 0,03$, consistente con el etiquetado (**Tabla 2**) en la que no se indica la presencia de sustancias ácidas. Se observaron diferencias estadísticamente significativas para el contenido de HMF en las distintas muestras, siendo la muestra D la que mayor cantidad presentaba con $0,17 \pm 0,03$ mg por 100 g, seguidas de las muestras A y E con $0,11 \pm 0,01$ mg por 100 g. En cuanto a los valores de la humedad, se observó que la muestra E presentaba mayor humedad que el resto de las muestras superando el 21 %, mientras que las muestras A y F presentaron una humedad alrededor del 16 %. En los bizcochos con menor humedad y pH las reacciones de Maillard se ven favorecidas y por tanto se esperaría un mayor contenido en HMF (Kroh, 1994). Los valores para el contenido en ácido cítrico se situaron entre $0,09 \pm 0,00$ g por 100 g en el caso de la muestra C hasta $0,19 \pm 0,00$ g/100 g en la muestra E, correspondiéndose con lo indicado en los ingredientes de cada bizcocho. La cantidad de ácido málico fue significativamente mayor en la muestra E con $0,09 \pm 0,00$ g/100 g seguida de la muestra D con $0,07 \pm 0,00$ g/100 g, en las muestras B y C el contenido era inferior a centésimas de g/100 g. En

las muestras de bizcochos comerciales no se detectó ácido tartárico, si bien estaba incluido en la lista de ingredientes de la muestra A el tamaño del pico al tiempo de retención esperado era muy pequeño y quedó fuera del rango de la recta de calibración. La presencia de ácido tartárico en la muestra A pudiera ser una explicación al mayor contenido en HMF de la muestra, como se observa en los bizcochos elaborados. En lo relativo a los azúcares presentes, la muestra A contiene la mayor cantidad con $23,2 \pm 0,6$ g/100 g de sacarosa y $3,72 \pm 0,40$ g/100 g de glucosa, la muestra con menos azúcares totales fue la C. La muestra G contenía $2,79 \pm 0,05$ g/100 g de fructosa pero los valores de HMF fueron menores. La cantidad de azúcares se corresponde de forma aproximada a la cantidad indicada en la etiqueta de los productos.

Los parámetros de color (L^* , a^* , b^* y ΔE^*) se detallan en la **Tabla 5**, la muestra con mayor luminosidad en el interior (L^*) fue la F, siendo las muestras C, D y E las que menor L^* presentaban en el interior, sin diferencias significativas entre ellas. Los valores de ΔE^* fueron mayores que 10, mostrando diferencias evidentes de color en las muestras A, C, D y E con respecto a la estándar, siendo estas a su vez las muestras con menor luminosidad tanto en el interior como en la superficie. En el trabajo de Kowalski *et al.* (2013) se correlaciona la luminosidad de pastas de té con el contenido en HMF y se propone como herramienta para medir la cantidad de HMF en este tipo de alimentos. En el presente trabajo se observa como los bizcochos con mayor contenido en HMF presentan menor valor L^* tanto en el interior como en el exterior, exceptuando la muestra C en el interior. Sin embargo, no hay datos suficientes para proponer la medida de la luminosidad como herramienta fiable para estimar el HMF en bizcocho.

En los resultados no se observa una correlación entre el pH del bizcocho y el contenido en HMF, tampoco se correlaciona con la humedad ni con el contenido en ácido málico y los azúcares. Según Zhang *et al.* (2012) y Masatcioglu *et al.* (2015) la presencia de ácido cítrico favorece la formación de HMF y F, los resultados obtenidos coinciden con que los bizcochos con más cantidad de ácido cítrico presentan mayor contenido en HMF, aunque no de manera proporcional. Las diferencias de HMF entre las muestras posiblemente se deban a las condiciones distintas de elaboración de cada bizcocho (temperatura y tiempo de horneado) las cuales se desconocen. De los resultados se observa que la cantidad de HMF presente en los bizcochos comerciales es de 0,01-0,17 mg por 100 g, en los resultados de Petisca *et al.* (2014) los valores de HMF en muestras de pasteles y bizcochos estaban entre 0,006 a 4,428 mg por 100 g. En este mismo estudio la muestra de bizcocho edulcorada con maltitol fue la que presentó mayor contenido en HMF en los dos lotes analizados. En los resultados obtenidos en este trabajo las muestras D y E, con mayor contenido en HMF estaban endulzadas con maltitol y tenían bajo contenido en azúcar, sin embargo, la muestra C también contenía maltitol pero los niveles de HMF fueron muy bajos, pudiendo ser debido al bajo contenido en ácidos y pH mayor que 9, condiciones en las que la formación de HMF se ve desfavorecida. Estos resultados difieren con los obtenidos en los estudios de García-Serna *et al.* (2014) y Mesias *et al.* (2021) en galleta donde la cantidad de HMF es menor cuando se reemplaza la sacarosa por polioles como el maltitol. En cualquier caso nuestro objetivo era determinar el contenido en HMF en productos comerciales para poder ubicar los resultados de nuestros propios bizcochos por comparación.

3.2 Bizcochos Elaborados

Tras el análisis de los parámetros fisicoquímicos de los bizcochos elaborados se observaron diferencias estadísticamente significativas en el pH, contenido de HMF, ácidos orgánicos y azúcares. No se observaron diferencias en la humedad de las muestras (**Tabla 6**).

Por lo que respecta al pH, los valores fueron ácidos para las muestras que contenían los distintos agentes leudantes, tomando los valores más bajos las muestras de ácido tartárico y la combinación tartárico-málico, siendo $3,63 \pm 0,03$ y $3,73 \pm 0,05$ respectivamente. La muestra control presenta un pH básico de $9,19 \pm 0,03$ al no contener ácidos añadidos. En las 4 formulaciones se comprobó, con el análisis de ácidos orgánicos, que las cantidades añadidas durante la preparación corresponden con las detectadas en el producto final. El contenido en HMF fue significativamente superior en la muestra con ácido tartárico con $4,83 \pm 3,6$ mg por 100 g de muestra. Entre las muestras con ácido cítrico y tartárico-málico no se encontraron diferencias significativas, con valores de HMF de $2,20 \pm 0,15$ y $2,75 \pm 1,43$ mg/100 g.

En último lugar, la muestra control presentó un contenido de HMF de $0,01 \pm 0,00$ mg/100 g.

La cantidad de azúcar añadida a la masa de los bizcochos elaborados fue de 24,9 g/100 g en las 4 formulaciones (**Tabla 3**), sin embargo, la cantidad de azúcares totales fue superior en los bizcochos con ácido cítrico y control. En los bizcochos que contenían ácido tartárico la cantidad de sacarosa y glucosa fue significativamente menor que en el resto de las muestras. Mientras que en los bizcochos control el contenido en fructosa fue de $0,25 \pm 0,00$ g/100 g, la cantidad de fructosa en la muestra de ácido tartárico fue de $2,44 \pm 0,18$ g/100 g y en la de ácido tartárico y málico de $2,02 \pm 0,11$ g/100 g posiblemente producida por la hidrólisis de la sacarosa en medio ácido.

En los parámetros de color (**Tabla 7**), no se observaron diferencias significativas entre las muestras, únicamente para el parámetro a^* medido en el interior, con valores superiores y por tanto más rojos en los bizcochos con ácido cítrico y tartárico. Según la ΔE^* calculada entre las muestras las diferencias de color con respecto a la muestra estándar en el interior son diferenciables si se observan con detenimiento. Sin embargo, para la superficie, la diferencia es perceptible a simple vista para los bizcochos de cítrico y tartárico con respecto a la control.

Estos resultados indican que la presencia de ácidos en la formulación de bizcochos de aceite da lugar a una mayor concentración de HMF en el producto final, tal y como se ha descrito en otros trabajos (Zhang *et al.*, 2012; Masatcioglu *et al.*, 2015). También, se observa que la presencia de ácido tartárico supone una mayor formación de HMF, además de ser mayor el contenido de fructosa en los bizcochos con este ácido en su formulación. Posiblemente, el ácido tartárico actúe de forma que la hidrólisis de la sacarosa es mayor o más rápida, dando lugar a fructosa y glucosa, siendo la deshidratación de la fructosa más efectiva que la de la glucosa, por ello se observa más cantidad de esta última en los análisis, como explican Kowalski *et al.*, (2013) en su trabajo. Eventualmente, sería conveniente realizar el experimento para observar la influencia del ácido málico en la reacción sin la presencia de tartárico.

En el estudio de González-Mulero *et al.* (2022) las muestras comerciales tenían menor contenido en compuestos furánicos que las muestras caseras o de catering, resolviendo que las medidas de mitigación de productos de las reacciones de Maillard como la acrilamida también reducen la formación de estos compuestos. La diferencia en el contenido de HMF entre los bizcochos comerciales y los elaborados podrían también estar influidos por estas estrategias de mitigación.

Entre las estrategias de mitigación de acrilamida está la adición de ácidos orgánicos que reducen el pH del medio y protonan el grupo α -amino de la asparagina, por lo que no reacciona con los grupos carbonilo y la reacción se interrumpe. No obstante, la correlación entre la disminución del pH y la reducción de la acrilamida varía entre los productos debido a múltiples factores como el tipo de azúcar presente, la matriz alimentaria o las condiciones de horneado (Capuano y Fogliano, 2011; Perera *et al.*, 2021). Por ejemplo, en galleta Gökmen *et al.* (2007) observan un aumento en la formación de acrilamida e HMF cuando se añade ácido cítrico a la fórmula, estos resultados también se pueden explicar debido a la mayor hidrólisis de la sacarosa. De ahí que las estrategias de mitigación de acrilamida puedan resultar o no en una consecuente reducción del HMF si se trata de cambios en la formulación de los alimentos, principalmente en el cambio de pH del medio.

Con los resultados obtenidos puede afirmarse que, emplear levaduras químicas comerciales con ácido tartárico en bizcochos caseros da lugar a una mayor hidrólisis de la sacarosa empleada, y por tanto a una mayor formación de HMF, sin observarse cambios en los parámetros de color y humedad.

Tabla 4. Valores de pH, Humedad, HMF y contenido en ácidos orgánicos (Cítrico y Málico) y azúcares (Sacarosa, Glucosa y Fructosa) de los bizcochos comerciales (A-G). Los resultados se expresan como la media \pm SD.

| Muestra | pH | Humedad (%) | HMF (mg/100 g) | Cítrico | Málico | Sacarosa (g/100 g) | Glucosa | Fructosa |
|---------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| | ANOVA | | | | | | | |
| | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** |
| Tukey Multiple Range Test | | | | | | | | |
| A | 6,80 \pm 0,03 f | 16,3 \pm 0,7 d | 0,11 \pm 0,01 b | 0,13 \pm 0,00 c | 0,04 \pm 0,01 d | 23,2 \pm 0,6 a | 3,72 \pm 0,40 a | 0,92 \pm 0,06 cd |
| B | 7,88 \pm 0,03 d | 17,7 \pm 0,1 c | 0,03 \pm 0,01 c | 0,11 \pm 0,00 d | 0,00 \pm 0,00 e | 18,3 \pm 0,3 c | 3,55 \pm 0,08 a | 0,56 \pm 0,02 d |
| C | 9,61 \pm 0,02 a | 19,1 \pm 0,4 b | 0,01 \pm 0,00 c | 0,09 \pm 0,01 e | 0,00 \pm 0,00 e | 0,3 \pm 0,2 e | 1,61 \pm 0,02 c | 0,52 \pm 0,06 d |
| D | 8,03 \pm 0,04 c | 19,5 \pm 0,2 b | 0,17 \pm 0,03 a | 0,15 \pm 0,00 b | 0,07 \pm 0,00 b | 1,6 \pm 0,4 d | 1,60 \pm 0,05 c | 1,23 \pm 0,39 bc |
| E | 8,18 \pm 0,07 b | 21,1 \pm 0,1 a | 0,11 \pm 0,01 b | 0,19 \pm 0,00 a | 0,09 \pm 0,00 a | 2,3 \pm 0,1 d | 1,59 \pm 0,05 c | 1,52 \pm 0,10 b |
| F | 7,83 \pm 0,02 d | 16,0 \pm 0,2 d | 0,01 \pm 0,01 c | 0,10 \pm 0,00 d | 0,04 \pm 0,00 d | 19,6 \pm 0,1 b | 2,97 \pm 0,22 b | 0,58 \pm 0,06 d |
| G | 7,29 \pm 0,01 e | 18,6 \pm 0,3 bc | 0,02 \pm 0,01 c | 0,12 \pm 0,00 d | 0,05 \pm 0,00 c | 17,1 \pm 0,1 c | 2,60 \pm 0,07 b | 2,79 \pm 0,05 a |

***: diferencias significativas $p \leq 0,001$. Letras distintas para un mismo parámetro indican diferencias significativas según el test de Tukey ($p \leq 0,001$).

Tabla 5. Coordenadas CIE Lab de color de bizcochos comerciales (A-G) medidos en el interior y en la superficie, valor ΔE^* con respecto a la muestra estándar. Los resultados se expresan como la media \pm SD.

| Muestra | INTERIOR | | | ΔE^* | SUPERFICIE | | | ΔE^* | |
|---------------------------|------------------|------------------|-------------------|--------------|------------|------------------|-------------------|-------------------|------|
| | L^* | a^* | b^* | | L^* | a^* | b^* | | |
| | ANOVA | | | | | | | | |
| | *** | *** | *** | | *** | *** | *** | | |
| Tukey Multiple Range Test | | | | | | | | | |
| A | 63,8 \pm 0,6 c | 1,3 \pm 0,4 c | 23,1 \pm 0,7 c | 10,2 | A | 36,9 \pm 0,4 d | 12,6 \pm 0,0 c | 11,0 \pm 0,3 e | 39,0 |
| B | 65,9 \pm 0,6 b | 0,5 \pm 0,1 d | 21,1 \pm 0,4 d | 9,1 | B | 54,2 \pm 1,2 a | 12,6 \pm 0,5 c | 28,8 \pm 1,3 a | 14,8 |
| C | 60,3 \pm 0,2 d | 1,4 \pm 0,1 c | 24,0 \pm 0,0 c | 13,3 | C | 45,2 \pm 0,8 b | 12,6 \pm 0,5 c | 24,7 \pm 2,3 bc | 24,7 |
| D | 59,2 \pm 1,0 d | 4,2 \pm 0,1 b | 27,4 \pm 0,6 a | 15,1 | D | 40,3 \pm 0,3 c | 13,7 \pm 0,9 bc | 17,9 \pm 1,7 d | 32,2 |
| E | 59,8 \pm 0,2 d | 4,9 \pm 0,2 a | 25,9 \pm 0,4 b | 14,8 | E | 39,9 \pm 1,0 c | 14,4 \pm 0,6 ab | 18,3 \pm 1,7 d | 32,4 |
| F | 71,4 \pm 0,3 a | -0,4 \pm 0,1 e | 19,9 \pm 0,0 e | 6,7 | F | 47,2 \pm 1,4 b | 16,1 \pm 0,5 a | 28,3 \pm 0,5 ab | 21,8 |
| G | 67,1 \pm 0,7 b | -1,2 \pm 0,1 f | 20,1 \pm 0,1 de | 8,5 | G | 47,7 \pm 0,2 b | 13,0 \pm 0,9 bc | 23,5 \pm 0,1 c | 22,9 |

***: diferencias significativas $p \leq 0,001$. Letras distintas para un mismo parámetro indican diferencias significativas según el test de Tukey ($p \leq 0,001$).

Tabla 6. Valores de pH, Humedad, HMF y contenido en ácidos orgánicos (Cítrico y Máfico) y azúcares (Sacarosa, Glucosa y Fructosa) de los bizcochos elaborados con distintos ácidos (Cítrico, Tartárico, Control y Tartárico y Máfico). Los resultados se expresan como la media \pm SD.

| Muestra ¹ | pH | Humedad (%) | HMF (mg/100g) | Cítrico | Tartárico | Máfico (g/100g) | Sacarosa | Glucosa | Fructosa |
|----------------------------|-------------------|----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| | ANOVA | | | | | | | | |
| | *** | NS | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** |
| Tukey Multiple Range Test | | | | | | | | | |
| <i>Cítrico</i> | 4,11 \pm 0,10 b | 21,8 \pm 2,6 | 2,20 \pm 0,15 b | 0,75 \pm 0,01 a | 0,02 \pm 0,00 c | 0,01 \pm 0,00 b | 21,7 \pm 0,9 a | 4,33 \pm 0,06 b | 1,78 \pm 0,27 b |
| <i>Tartárico</i> | 3,63 \pm 0,03 c | 21,6 \pm 1,8 | 4,83 \pm 3,6 a | 0,04 \pm 0,00 b | 0,78 \pm 0,01 a | 0,01 \pm 0,00 b | 19,3 \pm 0,4 b | 3,18 \pm 0,12 c | 2,44 \pm 0,18 a |
| <i>Control²</i> | 9,19 \pm 0,03 a | 22,8 \pm 1,4 | 0,01 \pm 0,00 c | 0,04 \pm 0,00 b | 0,00 \pm 0,00 c | 0,01 \pm 0,00 b | 22,8 \pm 0,6 a | 6,30 \pm 0,18 a | 0,25 \pm 0,00 c |
| <i>Tartárico y Máfico</i> | 3,73 \pm 0,05 c | 23,5 \pm 0,8 | 2,75 \pm 1,43 b | 0,03 \pm 0,00 b | 0,37 \pm 0,01 b | 0,43 \pm 0,01 a | 19,5 \pm 0,1 b | 3,08 \pm 0,05 c | 2,02 \pm 0,11 ab |

¹Tipo de ácido empleado en cada formulación. ²No contiene agentes leudantes ácidos.

NS: sin diferencias significativas. ***: diferencias significativas $p \leq 0,001$. Letras distintas para un mismo parámetro indican diferencias significativas según el test de Tukey ($p \leq 0,001$).

Tabla 7. Coordenadas CIE Lab de color de bizcochos comerciales (A-G) medidos en el interior y en la superficie, valor ΔE^* con respecto a la muestra estándar (Control). Los resultados se expresan como la media \pm SD.

| Muestra ¹ | INTERIOR | | | | ΔE^* | SUPERFICIE | | | | | |
|----------------------------|----------------|------------------|----------------|-------|---------------------------|----------------------------|----------------|----------------|----------------|------|--|
| | <i>L</i> * | <i>a</i> * | <i>b</i> * | ANOVA | | <i>L</i> * | <i>a</i> * | <i>b</i> * | ANOVA | | |
| | | | | | | NS | | | | NS | |
| | | | | | | * | | | | NS | |
| Tukey Multiple Range Test | | | | ANOVA | Tukey Multiple Range Test | | | | | | |
| <i>Cítrico</i> | 71,2 \pm 1,2 | -1,5 \pm 0,1 b | 22,8 \pm 0,6 | | 3,87 | <i>Cítrico</i> | 61,5 \pm 4,0 | 11,3 \pm 3,7 | 41,9 \pm 0,1 | 6,71 | |
| <i>Tartárico</i> | 70,7 \pm 1,5 | -1,3 \pm 0,3 b | 25,1 \pm 2,2 | | 2,61 | <i>Tartárico</i> | 61,2 \pm 3,6 | 11,4 \pm 1,9 | 39,5 \pm 2,8 | 5,71 | |
| <i>Control²</i> | 73,0 \pm 0,7 | -1,9 \pm 0,5 a | 26,2 \pm 2,2 | | 0,00 | <i>Control²</i> | 65,1 \pm 1,2 | 7,74 \pm 1,3 | 37,5 \pm 0,9 | 0,00 | |
| <i>Tartárico y Máfico</i> | 73,4 \pm 1,7 | -2,2 \pm 0,1 a | 22,6 \pm 1,8 | | 3,63 | <i>Tartárico y Máfico</i> | 66,7 \pm 5,1 | 5,58 \pm 3,5 | 38,3 \pm 1,6 | 2,80 | |

¹Tipo de ácido empleado en cada formulación. ²No contiene agentes leudantes ácidos.

NS: sin diferencias significativas. *: diferencias significativas $p \leq 0,05$. Letras distintas para un mismo parámetro indican diferencias significativas según el test de Tukey ($p \leq 0,05$).

4. Conclusiones

En los bizcochos comerciales estudiados el contenido en HMF se sitúa en el rango de 0,01 y 0,17 mg/100 g. Los bizcochos sin azúcar presentan el contenido mínimo observado de HMF y el máximo en el caso de los que contienen naranja, por ello se deduce que el uso de polioles no resulta en una inhibición de la formación de HMF. El perfil de ácidos orgánicos de bizcochos comerciales evidencia que no es común la utilización de ácidos como ingrediente del agente leudante en su formulación.

El contenido de HMF en bizcochos elaborados fue mayor que en los bizcochos comerciales, situándose en el rango 0,01 a 4,83 mg/100 g. El uso de ácidos en la formulación de bizcochos caseros da lugar a una mayor formación de HMF que cuando se emplea únicamente soda como agente leudante. En concreto, el ácido tartárico contribuye en mayor medida a dicha formación. La medida del pH no es un parámetro adecuado para estimar la cantidad potencial de HMF, pues afecta el tipo de ácido empleado a valores pH similares.

El uso de soda como agente leudante en bizcochos resulta en una menor formación de HMF en comparación con el uso de agentes leudantes soda-ácidos, y por tanto mejora su inocuidad en este sentido. Es necesario realizar estudios más amplios en los que se determinen otros parámetros de calidad e inocuidad alimentaria de los bizcochos, como pueda ser la determinación del contenido en acrilamida y su estabilidad oxidativa y microbiológica para evaluar su efecto global en la inocuidad alimentaria.

Bibliografía

- Abraham, K., Gurtler, R., Berg, K., Heinemeyer, G., Lampen, A., Appel, K.E., **2011**. Toxicology and risk assessment of 5-Hydroxymethylfurfural in food. *Mol. Nutr. Food Res.* 55, 667–678. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201000564>
- Carbonell-Barrachina, A.A., Calín-Sánchez, A., Bagatar, B., Hernández, F., Legua, P., Martínez-Font, R., Melgarejo, P., **2012**. Potential of Spanish sour-sweet pomegranates (cultivar C25) for the juice industry. *Food Sci. Tech. Intern.*, 18(2), 129–138. <https://doi.org/10.1177/1082013211414783>
- Capuano, E. and Fogliano, V. **2011**. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT Food Sci. Tech.* 44, 4, 793–810. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.11.002>
- Francis, F.J., Clydesdale, F.H., **1975**. Food Colorimetry Theory and Applications. Avi Publishing: Westport, CT.
- García-Serna, E., Martínez-Saez, N., Mesias, M., Morales, F.J., del Castillo, M.D., **2014**. Use of Coffee Silverskin and Stevia to Improve the Formulation of Biscuits. *Polish J. Food Nutr. Sci.* 64(4):243–251. <https://doi.org/10.2478/pjfn-2013-0024>
- Gökmen, V., Açar, Ö.Ç., Köksel, H., Acar, J., **2007**. Effects of dough formula and baking conditions on acrylamide and hydroxymethylfurfural formation in cookies. *Food Chem.*, 104, 1136–1142. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.008>
- González-Mulero, L., Delgado-Andrade, C., Morales, F.J., Olombrada, E., Mesias, M., **2022**. Study of furanic compound content in common Spanish culinary preparations. Influence of the food preparation setting. *J. Food Compos. Anal.* 110, 104532. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104532>
- Keramat, J., LeBail, A., Prost, C., Jafari, M., **2011**. Acrylamide in Baking Products: A Review Article. *Food Bioprocess Technol.* 4:530–543. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0495-1>
- Kroh, L.W., **1994**. Caramelisation in Food and Beverages. *Food Chem.*, 51, 373-379. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(94\)90188-0](https://doi.org/10.1016/0308-8146(94)90188-0)
- Kowalski S., Lukaszewicz M., Juszczak L., Kutyla-Kupidura E.M., **2013**. Dynamics of 5-hydroxymethylfurfural formation in shortbreads during thermal processing. *Czech J. Food Sci.*, 31: 33-42. <https://doi.org/10.17221/87/2012-CJFS>

- Masatcioglu, T.M., Ng, P.K.W., Koksels, H., **2015**. Effects of formulation and extrusion cooking conditions on furfural and hydroxymethylfurfural content. *J. Cereal. Sci.* 65, 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.06.003>
- Mesias, M., Olombrada, E., González-Mulero, L., Morales, F.J., Delgado-Andrade, C., **2021**. Investigation on heat-induced chemical indexes in traditional and reformulated biscuits. *J. Food Compos. Anal.* 101, 103963. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103963>
- Perera, D.N., Hewavitharana, G.G., Navaratne, S.B., **2021**. Comprehensive Study on the Acrylamide Content of High Thermally Processed Foods. *BioMed Res. Intern.*, 6258508. <https://doi.org/10.1155/2021/6258508>
- Petisca, C., Henriques, A.R., Pérez-Palacios, T., Pinho, O., Ferreira, I.M.P.L.V.O., **2014**. Assessment of hydroxymethylfurfural and furfural in commercial bakery products. *J. Food Compos. Anal.* 33, 1, 20-25. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.10.004>
- Rufián-Henares, J.A., Delgado-Andrade, C., Morales, F.J., **2006**. Application of a Fast High-Performance Liquid Chromatography Method for Simultaneous Determination of Furanic Compounds and Glucosylisomaltol in Breakfast Cereals. *J. AOAC Intern.* 89, 1, 161-165. <https://doi.org/10.1093/jaoac/89.1.161>
- Zhang, Y.Y., Song, Y., Hu, X.S., Liao, X.J., Ni, Y.Y., Li, Q.H., **2012**. Effects of sugars in batter formula and baking conditions on 5-hydroxymethylfurfural and furfural formation in sponge cake models. *Food Res. Intern.* 49, 439–445. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.012>

